Jean RODIER
Bernard LEGUBE, Nicole MERLET *et coll.*

L'Analyse de l'eau

9e édition
Entièrement mise à jour

DUNOD

Algeria-Educ.com/forum

L'Analyse de l'eau

Consultez nos parutions sur dunod.com

Jean RODIER
Bernard LEGUBE, Nicole MERLET *et coll.*

L'Analyse de l'eau

9e édition
Entièrement mise à jour

DUNOD

Couverture : Mateo
Photo de couverture : © GettyImages

Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.
Le Code de la propriété intellectuelle du 1er juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.
Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).

DANGER
LE PHOTOCOPILLAGE TUE LE LIVRE

© Dunod, Paris, 2009
© Dunod Paris, 1959, pour la 1re édition
ISBN 978-2-10-054179-9

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2° et 3° a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).
Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

AVANT-PROPOS

Parmi les grands défis du XXIe siècle, celui de l'eau est évidemment au premier plan, au même titre que les sols cultivables et l'énergie. Est-ce à un problème de quantité d'eau disponible auquel l'humanité sera confrontée dans les prochaines décennies ? Est-ce plutôt un problème de qualité d'eau qu'il faudra surmonter ? Certains pays en développement, déjà dépourvus de ressources en eau suffisantes, connaîtront inévitablement un ralentissement de leur développement lié à l'appauvrissement quantitatif de leurs ressources en eau. Certains autres de ces pays, « riches » en eau, verront la pollution (déjà très importante) de leurs ressources s'accroître à un niveau tel qu'il sera difficile d'y remédier. Parallèlement, et quelque part indécemment, les pays économiquement développés seront de plus en plus exigeants sur la qualité de leurs eaux ainsi que sur la sensibilité et le nombre des contrôles à effectuer sur les eaux distribuées et les eaux rejetées dans le milieu récepteur.

Une chimie et une microbiologie analytiques performantes de l'eau sont bien évidemment nécessaires pour relever ces défis, en s'appuyant sur des méthodes de dosage fiables, précises, sensibles, si possible miniaturisées et « en ligne ». En effet, ces méthodes analytiques sont (et seront toujours) des outils incontournables pour diagnostiquer et prédire l'évolution de la qualité des eaux naturelles souterraines, superficielles douces et marines, pour contrôler la qualité des eaux distribuées destinées à la consommation humaine et celle des effluents rejetés, ou encore pour suivre le fonctionnement des procédés de traitement des eaux et d'épuration des effluents aqueux urbains et industriels.

Il y a 50 ans maintenant que paraissait la première édition de « l'Analyse de l'Eau ». À cette époque les problèmes de l'environnement n'étaient pas aussi réels et sensibles qu'aujourd'hui, le nombre de laboratoires d'hydrologie était réduit et les moyens en matériel et en personnel spécialisés très limités. Chargé alors de l'étude des eaux, plus particulièrement en zones arides, l'auteur initial, Jean RODIER, fit le constat que les données n'étaient pas toujours faciles à utiliser en raison de leur dispersion dans divers traités, mémoires et revues. Il lui parut donc utile de procéder à un regroupement des méthodes de dosage qui constitua la première édition de l'ouvrage connu ensuite sous le nom du « RODIER », ouvrage de référence en langue française pour de très nombreux laboratoires d'analyse, centre de formations et laboratoires de recherche. Chacune des éditions successives s'efforça par la suite de tenir compte à la fois des progrès réalisés dans les techniques analytiques (flux continu, absorption atomique, chromatographie liquide, spectrométrie de masse, etc.), dans les technologiques industrielles (nucléaire par exemple), les pratiques agricoles (utilisation de phytosanitaires) et de l'expérience des auteurs.

Pour cette 9e édition, les professeurs des universités Bernard LEGUBE et Nicole MERLET de l'École Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers ont accepté de coordonner la révision complète de l'ouvrage, avec l'aide et les conseils permanents de Monsieur Régis BRUNET, directeur du laboratoire IANESCO-Chimie de Poitiers. Des membres du CRECEP de Paris, du CEA Saclay, de l'IFREMER de Charente-Maritime, du LERES de Rennes, de la DIREN Poitou-Charentes et d'autres experts individuels ont contribué également très significativement à la révision de cet ouvrage. C'est plus d'une vingtaine de spécialistes qui ont ainsi constitué l'équipe de rédaction ou qui ont participé à cette révision.

La partie A sur l'analyse physico-chimique des eaux naturelles, la plus importante de l'ouvrage, a été profondément remaniée dans son plan comme dans son contenu détaillé. Les paramètres ont été regroupés par paragraphes, pour les analyses globales ou semi-globales (caractères organoleptiques, particules en suspension, salinité totale et titres, équilibres calco-carboniques, paramètres organiques globaux) ainsi que pour les analyses spécifiques (gaz dissous, cations et anions minéraux, radioactivité, micropolluants organiques, soufre et composés soufrés, contrôle de la désinfection). Les méthodes ont été bien évidemment actualisées, mais la plupart des méthodes anciennes ont été conservées afin de répondre aux besoins des laboratoires insuffisamment équipés. L'équipe de coordination poitevine a particulièrement révisé cette partie, notamment en réécrivant totalement les méthodes de dosage de la quasi-totalité des éléments de la classification périodique, des micropolluants organiques et des oxydants et désinfectants. Gwenaëlle LAVISON a contribué très activement à la rédaction de la partie sur les micropolluants organiques et Pierre LEROY et Jean-Claude MIALOCQ ont accepté de réécrire respectivement les parties sur les équilibres calco-carboniques et sur la radioactivité. Des listes bibliographiques actualisées ont été introduites.

La partie B sur l'analyse microbiologique des eaux a été révisée par Laurent MOULIN et ses collaborateurs. Si les méthodes générales de bactériologie analytique concernant les bactéries indicatrices de contamination des eaux n'ont que peu évolué, les auteurs ajoutent à cet ouvrage des compléments, maintenant indispensables en bactériologie des eaux, sur l'analyse virale (détection, isolement, numération et identification), sur la recherche des parasites (*Giardia lamblia* et *Cryptoridium parvum*) et sur la détermination des amibes libres.

La partie C sur la détermination de la qualité biologique des eaux a fait l'objet d'une nouvelle rédaction par l'équipe de Poitiers avec l'aide de la DIREN Poitou-Charentes. Les indices biologiques développés au cours des dernières années (indices macro-invertébrés, diatomées, oligochètes, macrophytes, poissons) et qui prennent une place de plus en plus importante dans la mise en œuvre des plans de gestion des milieux aquatiques sont décrits dans ce chapitre, qui laisse également une place de choix aux tests de toxicité (bactéries, algues, crustacés, poissons).

La partie D sur les eaux résiduaires a été révisée principalement par l'équipe de coordination de Poitiers. La révision s'est avérée légère pour les critères globaux de pollution ainsi que pour les dosages particuliers. Le lecteur pourra se reporter à la partie sur les eaux naturelles pour le dosage

de certains paramètres spécifiques dans les eaux résiduaires comme les métaux ou les micropolluants organiques. Les paragraphes de cette partie D sur la radioactivité et la parasitologie ont été complètement réécrits respectivement par Jean-Claude MIALOCQ et Laurent MOULIN avec leurs collaborateurs.

Pour ces parties B, C et D la bibliographie a été actualisée comme dans la partie A.

La partie E est consacrée à l'eau de mer. C'est grâce à la collaboration de l'IFREMER, notamment de Christian BECHEMIN que cette partie a pu être revue en conservant la structure de l'édition précédente. Le paragraphe sur les prélèvements a été très significativement amendé et un paragraphe sur les mesures de matières inhibitrices en eau de mer a été ajouté. Comme pour les eaux usées, le lecteur devra se reporter à la partie A pour les méthodes de dosage des micropolluants minéraux et organiques dans l'eau de mer.

La partie F sur l'analyse d'un dépôt et d'un sédiment n'a été que peu modifiée, les évolutions dans ce domaine concernant plus une caractérisation minéralogique des dépôts que leur analyse chimique.

La partie G sur l'interprétation des résultats analytiques est une partie importante de l'ouvrage, notamment les paragraphes sur les paramètres physico-chimiques révisés par l'équipe poitevine avec l'aide de Jean-Claude MIALOCQ, sur les paramètres microbiologiques corrigés par Laurent MOULIN et les aspects réglementaires où René SEUX a apporté sa participation précieuse.

Un mémento du laboratoire d'analyse d'eau figure dans la partie H. Il correspond pour partie à des informations figurant précédemment en annexe. Ce chapitre a été revu, réorganisé et complété par l'équipe de coordination.

Le lecteur trouvera en annexe des informations intéressantes sur les organismes français impliqués dans la gestion de l'eau et de l'environnement (Agences de l'eau, services de l'État, syndicats professionnels). Une liste des principales ressources documentaires et un glossaire complètent cette dernière partie.

Des progrès considérables ont été faits ces dernières décennies dans le domaine de l'analyse d'eau notamment sur les traces ou ultra-traces de métaux lourds, de métalloïdes toxiques ou indésirables, d'éléments radioactifs et de micropolluants organiques traditionnels (pesticides par exemple) et émergents (résidus pharmaceutiques par exemple), ou encore sur l'utilisation des méthodes de biologie moléculaire pour la détection et la quantification des bactéries ou des virus. En outre, il s'avère que les matières (ou matrices) organiques présentes dans les eaux à plusieurs mg/L (ppm), qu'elles soient d'origine naturelle ou anthropique, jouent un rôle prépondérant dans les mécanismes d'évolution naturelle des ressources en eau superficielle ou lors du traitement et de la distribution des eaux. Elles doivent être de plus en plus souvent quantifiées, voire caractérisées. Par ailleurs, la forte pression des organismes de santé des pays développés sur l'identification et la quantification des microorganismes pathogènes

ainsi que les risques sanitaires par voie hydrique de plus en plus intenses dans les pays en développement, conduisent à des contrôles microbiologiques de plus en plus nombreux et approfondis.

Cette nouvelle édition de « L'analyse de l'eau » s'attache à décrire et à expliquer clairement, logiquement et assez simplement ces différents aspects de la qualité des eaux. Ce manuel n'a évidemment pas la prétention d'apporter des connaissances nouvelles aux hyper-spécialistes, mais les enseignants et certains chercheurs dans le domaine de l'eau y trouveront certainement des bases et des détails utiles.

Comme pour les précédentes éditions, le but de cet ouvrage reste essentiellement de faciliter le travail de laboratoire d'analyse tant au niveau de la bonne exécution des méthodes qu'à celui de l'interprétation des résultats. Nous espérons avoir atteint cet objectif.

REMERCIEMENTS

L'équipe de rédaction tient à exprimer sa reconnaissance à tous ses collaborateurs qui ont accepté avec spontanéité d'alourdir leur charge de travail pour apporter leurs connaissances et leur expérience dans des domaines analytiques de haute technicité. Il est impossible ici de les remercier individuellement, mais leurs conseils ou leurs travaux permettent à cette nouvelle édition de l'ouvrage de bénéficier des méthodes et technologies les plus récentes utilisées dans l'analyse des eaux.

Ces remerciements s'adressent en particulier à Marie-Jeanne GOURMAUD et à Damien SIGURET, responsables respectivement du service micropolluants organiques et du service micropolluants minéraux de IANESCO. Ils ont apporté leurs compétences et leur rigueur pour la rédaction de certains protocoles analytiques et fourni les précisions technologiques nécessaires à la mise en œuvre de certaines méthodes.

L'équipe tient également à exprimer sa reconnaissance à Yannick MERLET, ingénieur à la DIREN Poitou-Charentes (Service de l'Eau et des Milieux Aquatiques), pour sa contribution substantielle au chapitre sur les indicateurs biologiques de qualité des eaux. Ses commentaires et suggestions ont permis le choix des paramètres à développer et l'écriture des protocoles.

Jean AUPIAIS (CEA, DAM/DASE) et Stéphane SCAPOLAN (CEA, DSM/SAC) sont chaleureusement remerciés pour leur aide à la rédaction des paragraphes sur la radioactivité. Tous deux ont participé à la rédaction de plusieurs des normes françaises citées. Les nombreuses discussions sur la scintillation liquide alpha PERALS et les précieux conseils fournis ont permis de concrétiser cet ouvrage.

Plusieurs collaborateurs du BRGM ont apporté leur concours pour la rédaction du paragraphe sur l'utilisation des traceurs artificiels en hydrogéologie. Qu'ils trouvent ici le témoignage de notre gratitude.

L'équipe de rédaction souhaiterait enfin témoigner sa reconnaissance à tous ceux qui, au cours de toutes ces années, ont mis leurs savoirs et leur passion afin que la chimie analytique soit d'une aide indéfectible pour la connaissance de notre environnement.

L'équipe de rédaction

SUPPLÉMENTS EN LIGNE

Certaines méthodes d'analyses ne sont aujourd'hui plus utilisées, ou très peu. Elles ne sont donc pas détaillées dans cet ouvrage mais vous pourrez les retrouver intégralement en téléchargement.

Ces suppléments en lignes sont disponibles sur le site www.dunod.com sur la fiche dédiée au présent ouvrage. Un mot de passe se référant à ce dernier vous sera demandé pour pouvoir les télécharger.

ÉQUIPE DE RÉDACTION DE LA NOUVELLE ÉDITION

Sous la direction de :

Bernard Legube

Professeur des universités en chimie et traitement des eaux

Directeur de l'École Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers (Université de Poitiers)

Directeur du Laboratoire de Chimie et Microbiologie de l'Eau (UMR 6008 Université de Poitiers – CNRS)

Nicole Merlet

Professeur honoraire des universités en chimie et traitement des eaux

Laboratoire de Chimie et Microbiologie de l'Eau (UMR 6008 Université de Poitiers – CNRS) – École Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers (Université de Poitiers)

Régis Brunet

Directeur du Laboratoire Ianesco (Institut d'analyses et d'essais en chimie de l'Ouest) – Biopôle – Poitiers

Principaux secteurs d'activités : eaux et environnement, emballages et matériaux au contact des aliments

Ont collaboré à la rédaction de la 9e édition de cet ouvrage :

Jean-Claude Mialocq	CEA Saclay, Direction des Sciences de la Matière, Institut Rayonnement Matière de Saclay, Laboratoire de Radiolyse, Gif-sur-Yvette
Pierre Leroy	Spécialiste Corrosion et Entartrage. Ancien Directeur Scientifique du CRECEP
Marilyne Houssin	Docteur en microbiologie, biologie moléculaire. Laboratoire Départemental Frank Duncombe
Gwenaelle Lavison	Docteur en chimie analytique, Responsable du département micro-polluants organiques du CRECEP
Christian Bechemin	Chercheur Ifremer, chimie marine et écologie du phytoplancton, Laboratoire Environnement Ressource des Pertuis Charentais (LER/PC)
Michel Vincent	Océanologue, Expert-Consultant en Environnement Littoral & Aquaculture.

Pierre Rebouillon	Expert en environnement – Président de la S.A.S. COPRAMEX
Laurent Moulin	Docteur en microbiologie, Responsable du département R & D biologie du CRECEP
Patrick Chomodé	Cadre technique du département microbiologie du CRECEP
Pascale Dujardin	Cadre technique du département microbiologie du CRECEP
Sylvie Gosselin	Cadre technique du département R & D biologie du CRECEP
René Seux	Professeur honoraire de l'EHESP (École des Hautes Études en Santé Publique), Directeur honoraire du Laboratoire d'études et de recherche en environnement et santé
Fadi Al Mardini	Docteur en chimie et microbiologie de l'eau Laboratoire de Chimie et Microbiologie de l'Eau (UMR 6008 Université de Poitiers – CNRS)

COLLABORATEURS DES ÉDITIONS PRÉCÉDENTES

Christine BAZIN, maître ès sciences,
DEA écologie des eaux continentales,
responsable de l'Unité d'écotoxicologie du département d'hygiène appliquée à l'homme et à son environnement
Institut Pasteur de Lyon
Avenue Tony Garnier
69365 Lyon Cedex 07
(5, rue Pasteur, 69000 Oullins)

Jean-Paul BROUTIN, ingénieur chimiste,
chef de Section de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement
CEA – Centre de Cadarache
13108 Saint-Paul lez Durance
(36, rue Bedarride, 13600 Aix en Provence)

Paul CHAMBON, docteur en pharmacie,
professeur de Toxicologie,
Faculté de pharmacie de Lyon
Institut Pasteur de Lyon
Département d'hygiène appliquée à l'homme et à son environnement
Avenue Tony Garnier
69365 Lyon Cedex 07
(52, avenue Clémenceau, 69230 Saint-Genis Laval)

Hervé CHAMPSAUR, médecin biologiste
maître de conférence à l'Université Paris XI
Praticien des Hôpitaux de Paris
Directeur du Laboratoire régional d'hygiène et de biologie, Nice
(Villa Chenaie, Parc des Salins, 83990 Saint Tropez)

Lucienne RODI, ex-ingénieur à la Compagnie nationale d'aménagement du Bas-Rhône Languedoc
18, rue des Quatre Vents
30700 Bagnols/Cèze

Jean RODIER, Docteur en pharmacie (état et université),
inspecteur en Chef honoraire de la Santé publique
159, route de Tarascon
84000 Avignon

Avec l'assistance technique de :

Éliane CERUTTI.

SOMMAIRE

- **Analyse physico-chimique des eaux naturelles**
- **Analyse microbiologique des eaux**
- **Les indicateurs biologiques de la qualité des eaux**
- **Eaux résiduaires**
- **Analyse de l'eau de mer**
- **Analyse d'un dépôt et d'un sédiment**
- **Interprétation des résultats analytiques**
- **Mémento du laboratoire d'analyse d'eau**
- **Annexes**

TABLE DES MATIÈRES

A

Analyse physico-chimique des eaux naturelles

1 • Généralités **3**

1.1 Prélèvement de l'eau et conservation **3**

1.2 Principaux renseignements à fournir pour une analyse d'eau **11**

1.3 Principales analyses à effectuer sur site **11**

1.4 Détermination des connexions hydrauliques et des propriétés des aquifères : utilisation de traceurs **13**

1.4.1 Objectif des essais de traçage, 13

1.4.2 Précautions à prendre lors des essais de traçage, 14

1.4.3 Critères de choix des traceurs, 15

1.4.4 Principaux traceurs utilisés, 16

1.4.5 Techniques d'analyse des traceurs, 21

1.4.6 Interprétation des essais de traçage, 22

1.5 Mesure des débits **23**

1.5.1 Mesure des hauteurs d'eau, 23

1.5.2 Mesure des débits, 24

2 • Caractères organoleptiques **33**

2.1 Couleur (référence de qualité « Eau potable ») **33**

2.1.1 Méthode au platine-cobalt, 33

2.1.2 Méthode par comparaison avec des disques colorés, 35

2.2 Odeur (référence de qualité « Eau potable ») **35**

2.3 Goût, saveur, flaveur (référence de qualité « Eau potable ») **40**

3 • Particules en suspension et colloides **45**

3.1 Taille des particules dans les eaux naturelles **45**

3.2 Matières décantables **46**

3.3 Matières en suspension **47**

3.3.1 Méthode par filtration sur fibre de verre, 47
3.3.2 Méthode par centrifugation, 48
3.3.3 Méthode par ultra-centrifugation, 49
3.3.4 Examen microscopique du dépôt, 49
3.4 Résidu total **50**
3.5 Turbidité (limite de qualité « Eau potable ») **50**
3.5.1 Méthode au fil de platine, 50
3.5.2 Méthode de Secchi, 51
3.5.3 Méthode au fluorescope, 51
3.5.4 Méthode « des gouttes de mastic », 53
3.5.5 Méthode à la silice, 53
3.5.6 Méthode néphélométrique à la formazine, 54
3.6. Potentiel ZETA **56**
3.7 Pouvoir colmatant **57**
3.8 Indices de colmatage **57**
3.8.1 Modèles de colmatage des pores, 58
3.8.2 Indice de colmatage FI (***Fouling Index***), 58
3.8.3 Indice de colmatage MFI (***Modified Fouling Index***), 60

4 • Gaz dissous (gaz de l'eau) **63**
4.1 Solubilité des gaz dans l'eau **63**
4.2 Dosage des gaz totaux **64**
4.3 Oxygène dissous **65**
4.3.1 Méthode volumétrique (méthode de Winkler modifiée par Alsterberg), 65
4.3.2 Méthode électrochimique, 68
4.3.3 Tables de solubilités de l'oxygène dans l'eau, 69
4.4 Dioxyde de carbone (anhydride carbonique) **74**
4.4.1 Dioxyde de carbone libre par la méthode titrimétrique, 74
4.4.2 Dioxyde de carbone libre par la méthode graphique, 74

5 • Salinité totale, potentiels et titres **75**
5.1 Résidus et sels dissous totaux **75**
5.1.1 Résidu sec (ou sels dissous totaux sur eau filtrée), 75
5.1.2 Résidu minéralisé et perte au feu, 76
5.1.3 Détermination du résidu fixe sulfaté, 77
5.2 Conductivité électrique (référence de qualité « Eau potable ») **78**
5.2.1 Mesure de la conductivité électrique, 78
5.2.2 Conductivité équivalente et conductivité réelle, 83
5.2.3 Conductivité permanente, 83
5.2.4 Minéralisation globale de l'eau, 84
5.3 pH (référence de qualité « Eau potable ») **86**

5.3.1 Méthode colorimétrique, 87
5.3.2 Méthode potentiométrique avec électrode de verre, 92
5.4 Potentiel d'oxydo-réduction 96
5.5 rH 100
5.6 Acidité 100
5.6.1 Acidité forte, 101
5.6.2 Dioxyde de carbone dissous (CO_2 libre), 102
5.7 Alcalinité (TA-TAC) 107
5.7.1 Titre alcalimétrique simple (TA), 107
5.7.2 Titre alcalimétrique complet (TAC), 108
5.7.3 Méthode titrimétrique de dosage du TA et du TAC, 109
5.7.4 Méthode pH-métrique au point équivalent, 111
5.7.5 Méthode potentiométrique, 112
5.7.6 Méthode par flux continu, 113
5.8 Carbone minéral total 115
5.8.1 Méthode d'évolution, 115
5.8.2 Méthode instrumentale, 118
5.9 Dureté ou titre hydrotimétrique (TH) 118
5.9.1 Dureté totale par titrimétrie à l'EDTA, 119
5.9.2 Détermination de la dureté calcique, 121
5.9.3 Détermination de la dureté magnésienne, 122
5.10 Titre acidimétrique (TACi) ou Anions d'acides forts ou Sels d'acides forts (SAF) 122

6 • Équilibre calcocarbonique (agressivité, entartrage) 125
6.1 Rappel historique des diverses méthodes proposées 126
6.2 Données analytiques nécessaires aux calculs d'équilibre calcocarbonique 127
6.2.1 Éléments permettant de connaître la concentration en carbonate, 127
6.2.2 Autres éléments analytiques nécessaires ou souhaitables, 128
6.3 Aspects théoriques de l'équilibre calcocarbonique 128
6.3.1 Relations entre les concentrations des éléments dissous, 128
6.3.2 Relations entre des éléments dissous et des éléments d'une autre phase, 129
6.3.3 Éléments fondamentaux – Éléments caractéristiques, 131
6.3.4 Relations entre les éléments fondamentaux – Bases des représentations graphiques, 131
6.4 Détermination de l'agressivité ou du caractère entartrant d'une eau et utilisation des méthodes graphiques 132
6.4.1 Indice de LANGELIER, 132
6.4.2 Méthode de HALLOPEAU et DUBIN, 132
6.4.3 Diagramme de LEGRAND et POIRIER, 134

7 • Cations et anions **141**

7.1 Méthodes instrumentales pour l'analyse des cations et des anions **142**

7.1.1 Spectrométrie d'absorption moléculaire (absorption des radiations lumineuses de l'UV et du visible), 143

7.1.2 Analyse en flux, 148

7.1.3 Chromatographie ionique (CI), 152

7.1.4 Spectrométrie d'émission de flamme (ou photométrie de flamme), 166

7.1.5 Spectrométrie d'absorption atomique (SAA), 172

7.1.6 Spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction éventuellement associé à la spectrométrie de masse, 182

7.1.7 Électrodes ioniques spécifiques – Potentiométrie, 190

7.1.8 Analyse par activation , 194

7.2 Aluminium **194**

7.2.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 194

7.2.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 196

7.2.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (atomisation électrothermique), 197

7.2.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif, 198

7.3 Ammonium **199**

7.3.1 Méthode au bleu d'indophénol, 199

7.3.2 Méthode potentiométrique, 201

7.3.3 Méthode par flux continu, 202

7.3.4 Méthode par chromatographie ionique, 204

7.3.5 Méthode titrimétrique, 204

7.3.6 Méthode de Nessler, 204

7.4 Antimoine **204**

7.4.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (atomisation électrothermique) avec four graphite, 204

7.4.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure, 205

7.4.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 205

7.5 Argent **206**

7.5.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 206

7.5.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 209

7.5.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 210

7.5.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 211

7.6 Arsenic **212**

7.6.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 212

7.6.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure, 214

7.6.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (atomisation électrothermique) avec four graphite, 215

7.6.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 216

7.7 Baryum **217**

7.7.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 218

7.7.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 218

7.7.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 219

7.7.4 Méthode par chromatographie ionique, 220

7.8 Béryllium **220**

7.8.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 220

7.8.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 222

7.8.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 222

7.8.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 223

7.9 Bismuth **224**

7.9.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 224

7.9.2 Autres méthodes, 224

7.10 Borate et bore **225**

7.10.1 Méthode potentiométrique directe, 225

7.10.2 Méthode au carmin par spectrométrie d'absorption moléculaire, 227

7.10.3 Méthode à l'azométhine H par spectrométrie d'absorption moléculaire, 228

7.10.4 Méthode par flux continu, 229

7.10.5 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 231

7.11 Bromate **232**

7.11.1 Méthode par chromatographie ionique adaptée au dosage des bromates, 233

7.11.2 Autres méthodes, 235

7.12 Bromure **235**

7.12.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 236

7.12.2 Méthode par chromatographie ionique, 238

7.12.3 Méthode potentiométrique, 238

7.13 Cadmium **239**

7.13.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 239

7.13.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 241

7.13.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 242

7.13.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 243

7.14 Calcium **244**

7.14.1 Méthode titrimétrique à l'EDTA, 244

7.14.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 247

7.14.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 248

7.14.4 Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA, 249

7.14.5 Méthode par chromatographie ionique, 250

7.15 Carbonate et bicarbonate (ou hydrogénocarbonate) **250**

7.15.1 Méthode par dosage du TA-TAC, 251

7.15.2 Dosage du carbone minéral, 251

7.16 Césium **251**

7.16.2 Méthode du iodobismuthate de césium, 251

7.16.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 251

7.17 Chlorate **252**

7.17.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 252

7.17.2 Méthode titrimétrique, 254

7.17.3 Méthode par chromatographie ionique, 256

7.18 Chlorite **256**

7.18.1 Méthode par chromatographie ionique, 256

7.19 Chlorure **256**

7.19.1 Méthode de Mohr, 257

7.19.2 Méthode de Charpentier-Volhard, 258

7.19.3 Méthode potentiométrique et coulométrique , 259

7.19.4 Méthode par flux continu (méthode CFA) et détection photométrique, 259

7.19.5 Méthode par chromatographie ionique, 261

7.20 Chromate **262**

7.20.1 Dosage du chrome hexavalent, 262

7.20.2 Méthode par chromatographie ionique, 262

7.21 Chrome **262**

7.21.1 Chrome hexavalent par spectrométrie d'absorption moléculaire, 262

7.21.2 Chrome hexavalent par spectrométrie d'absorption

avec flamme après complexation et extraction, 264
7.21.3 Chrome hexavalent par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 264
7.21.4 Chrome total par spectrométrie d'absorption moléculaire, 266
7.21.5 Chrome total par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 267
7.21.6 Chrome total par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 268
7.21.7 Chrome total par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 269

7.22 Cobalt 270

7.22.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 270
7.22.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomiseur électrothermique), 271
7.22.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 272

7.23 Cuivre 273

7.23.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 273
7.23.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 275
7.23.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 276
7.23.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 277

7.24 Cyanure 278

7.25 Étain 278

7.25.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 278
7.25.2 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 279

7.26 Fer 280

7.26.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 281
7.26.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 282
7.26.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 283
7.26.4 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme après complexation et extraction, 284
7.26.5 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 285

7.27 Fluorure et fluor 286

7.27.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au zirconium et ériochrome-cyanine R, 286
7.27.2 Méthode par spectrométrie d'absorbtion moléculaire à l'alizarine et au nitrate de lanthane, 291

7.27.3 Méthode par flux continu , 293
7.27.4 Méthode potentiométrique, 294
7.27.5 Méthode par chromatographie ionique, 297
7.28 Gallium **297**
7.29 Germanium **298**
7.30 Indium **298**
7.31 Iodure et Iode **299**
7.31.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 299
7.31.2 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif associé à un spectromètre de masse (ICP/MS), 301
7.31.3 Méthode par chromatographie ionique, 302
7.32 Lithium **302**
7.32.1 Méthode par spectrométrie d'émission avec flamme, 302
7.32.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 303
7.32.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 304
7.32.4 Méthode par chromatographie ionique, 305
7.33 Magnésium **305**
7.33.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 305
7.33.2 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 306
7.33.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec flamme, 307
7.33.4 Méthode par hydrotimétrie, 307
7.33.5 Méthode par chromatographie ionique, 307
7.34 Manganèse **308**
7.34.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 308
7.34.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 310
7.34.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 311
7.34.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 311
7.34.5 Méthode par chromatographie ionique, 312
7.35 Mercure **312**
7.35.1 Dosage du mercure total par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation au permanganate péroxodisulfate, 313
7.35.2 Dosage du mercure total par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation au brome, 316
7.35.3 Dosage du mercure total par spectrométrie de fluorescence atomique, 318
7.35.4 Dosage du mercure organique, 320

7.36 Molybdène **322**
7.36.1 Méthode par spectrométire d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 322
7.36.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 323
7.36.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 323
7.37 Nickel **324**
7.37.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 324
7.37.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 325
7.37.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 325
7.38 Nitrate **326**
7.38.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 327
7.38.2 Méthode par réduction au cadmium, 329
7.38.3 Méthode par flux continu (méthode CFA), 330
7.38.4 Méthode par chromatographie ionique, 333
7.39 Nitrite **333**
7.39.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 333
7.39.2 Méthode par flux continu, 335
7.39.3 Méthode par chromatographie ionique, 336
7.40 Phosphate **336**
7.40.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 337
7.40.2 Méthode par flux continu, 339
7.40.3 Méthode par chromatographie ionique, 341
7.41 Plomb **341**
7.41.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 342
7.41.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 343
7.41.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 344
7.42 Plutonium **345**
7.43 Potassium **345**
7.43.1 Méthode par spectrométrie d'émission de flamme, 345
7.43.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 345
7.43.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 346
7.43.4 Méthode par chromatographie ionique, 346
7.44 Radium **347**
7.45 Sélénium **347**
7.45.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique

avec four graphite (atomisation électrothermique), 347
7.45.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure, 348
7.45.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 349
7.46 Silicate soluble (orthosilicate) et silice totale 350
7.46.1 Méthode gravimétrique, 351
7.46.2 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au molybdate d'ammonium, 351
7.46.3 Méthode par flux continu (méthode CFA), 353
7.46.4 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 355
7.46.5 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 356
7.47 Sodium 356
7.47.1 Méthode par spectrométrie d'émission de flamme, 357
7.47.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 358
7.47.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 359
7.47.4 Méthode par chromatographie ionique, 359
7.48 Strontium 360
7.48.1 Méthode par spectrométrie d'émission de flamme, 360
7.48.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 361
7.48.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 362
7.48.4 Méthode par chromatographie ionique, 362
7.48.5 Dosage du strontium 90, 362
7.49 Sulfate 363
7.49.1 Méthode gravimétrique, 363
7.49.2 Méthode néphélométrique, 363
7.49.3 Méthode par flux continu (méthode CFA), 365
7.49.4 Méthode par chromatographie ionique, 368
7.50 Sulfite 368
7.50.1 Méthode potentiométrique, 368
7.50.2 Méthode par chromatographie ionique, 368
7.51 Sulfure 368
7.52 Thallium 368
7.53 Thiocyanate 369
7.54 Thiosulfate 369
7.54.1 Méthode potentiométrique, 369
7.54.2 Méthode par chromatographie ionique, 369
7.55 Thorium 370

7.55.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au thorin, 370
7.55.2 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire à l'arsénazo (III), 372
7.55.3 Dosage de thorium 232, 372

7.56 Titane **372**
7.56.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 372
7.56.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 373

7.57 Tritium **374**

7.58 Uranium **374**
7.58.1 Méthode par spectrofluorimétrie, 374
7.58.2 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP/MS), 375
7.58.3 Autres méthodes, 375

7.59 Vanadium **376**
7.59.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 376
7.59.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 376
7.59.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique), 377
7.59.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 378

7.60. Zinc **379**
7.60.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 379
7.60.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, 381
7.60.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (atomisation électrothermique), 381
7.60.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP), 382

8 • Radioactivité 385

8.1 Généralités **385**
8.1.1 Radioactivité naturelle, 385
8.1.2 Radioactivité artificielle, 385
8.1.3 Exposition annuelle de la population, 386

8.2 L'eau **386**
8.2.1 Qualité radiologique de l'eau, 386
8.2.2 Conservation et manipulation des échantillons d'eau, 387

8.3 Détermination de la radioactivité d'un échantillon **387**
8.3.1 Spectrométrie gamma, 388
8.3.2 Spectrométrie alpha, 389
8.3.3 Mesure de la radioactivité bêta, 390

8.3.4 Sources de référence pour l'étalonnage des appareils, 390
8.3.5 Limite de détection et seuil de décision, 391
8.3.6 Modèle statistique, 391
8.3.7 Expression des résultats, 391
8.4 Actinides 392
8.4.1 Uranium, 392
8.4.2 Plutonium, 393
8.4.3 Transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha, 394
8.4.4 Radium, 395
8.4.5 Radon, 395
8.5 Strontium 90 et Yttrium 90 396
8.5.1 Indice de radioactivité β global en équivalent strontium 90, 396
8.5.2 Activité du strontium 90, 396
8.6 Tritium 397
8.7 Carbone 14 399
8.8 Césium 137 399
8.8.1 Méthode au phosphomolybdate d'ammonium, 399
8.8.2 Méthode du iodobismuthate de césium, 399

9 • Paramètres organiques globaux 403
9.1 Indice permanganate 404
9.2 Demande chimique en oxygène (DCO) 407
9.3 Demande biochimique en oxygène (DBO) 407
9.4 Carbone organique total (COT) 409
9.5 Carbone organique dissous biodégradable (CODB) 413
9.5.1 Méthode par bactéries fixées, 413
9.5.2 Méthode par bactéries en suspension, 416
9.6 Azote total et azote organique 418
9.6.1 Azote Kjeldahl (NK), 419
9.6.2 Azote par minéralisation au peroxodisulfate, 421
9.6.3 Dosage de l'azote global par chimiluminescence après oxydation en oxydes d'azote, 422
9.7 Composés phosphorés et phosphore total 423
9.7.1 Détermination des phosphates hydrolysables, 424
9.7.2 Détermination du phosphore total et du phosphore organique, 425
9.8 Composés organohalogénés (AOX) 428
9.9 Absorbance UV et absorbance UV spécifique 432
9.10 Matière organique naturelle et substances humiques 434
9.10.1 Fractionnement de la matière organique des eaux par filtration sur résines XAD, 435

9.10.2 Analyse chromatographique de classes de composés organiques : acides aminés et sucres, 437

10 • Micropolluants organiques 439

10.1 Méthodes instrumentales pour l'analyse des micropolluants organiques 440

10.1.1 Préparation et traitement de l'échantillon, 440

10.1.2 Chromatographie, 460

10.2 Acrylamide 475

10.3 Agents de surface (tensioactifs, détergents) 476

10.3.1 Agents de surface anioniques (Indice SABM), 477

10.3.2 Agents de surface cationiques, 481

10.3.3 Agents de surface non ioniques, 482

10.4 Aldéhydes (et chloroaldéhydes) 487

10.4.1 Méthode par dérivation au PFBHA et chromatographie gazeuse, 487

10.4.2 Méthode par dérivation au DNPH et chromatographie liquide, 89

10.5 AOX (et TOX) 491

10.5.1 Évaluation globale, 491

10.5.2 Évaluation spécifique de quelques AOX, 491

10.6 Benzène 494

10.7 Benzo(a)pyrène 494

10.8 BTEX 494

10.9 Chlorobenzènes 497

10.9.1 Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide, 497

10.9.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique, puis chromatographie gazeuse (Purge & Trap), 497

10.9.3 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« headspace »), 497

10.10 Chlorure de vinyle 498

10.10.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« Head Space ») ou après extraction liquide-liquide, 498

10.10.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (« Purge & Trap »), 498

10.11 Complexants 498

10.11.1 Dosage du NTA par spectrométrie d'absorption moléculaire, 498

10.11.2 Méthode par chromatographie gazeuse, 500

10.12 (1,2) – Dichloroéthane 503

10.12.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide, 503

10.12.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (« purge & trap »), 503

10.13 Dioxines **503**

10.14 Epichlorhydrine **504**

10.15 Hydrocarbures aromatiques monocycliques **506**

10.15.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête («headspace»), 506

10.15.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (purge & trap), 506

10.16 Hydrocarbures aromatiques polycycliques **510**

10.16.1 Dosage des HAP par extraction puis par chromatographie liquide avec détection par fluorescence, 510

10.16.2 Dosage des HAP par extraction liquide-liquide puis par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, 513

10.16.3 Dosage du naphtalène (seul) par chromatographie gazeuse, 514

10.17 Hydrocarbures halogénés aliphatiques volatils **515**

10.17.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête («headspace») ou après extraction liquide-liquide, 515

10.17.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (purge & trap), 519

10.18 Hydrocarbures totaux (indice hydrocarbure) **519**

10.18.1 Méthode par spectrométrie infra-rouge, 520

10.18.2 Méthode par chromatographie gazeuse, 520

10.19 Microcystine LR **523**

10.20 Mercaptans **525**

10.21 Nitrosamines (NDMA) **526**

10.22 Organostanniques **527**

10.23 Perturbateurs endocriniens de type œstrogéniques (hormones) **528**

10.24 Pesticides et apparentés **534**

10.24.1 Organochlorés par chromatographie gazeuse, 537

10.24.2 Organophosphorés (et organothiophosphorés) par chromatographie gazeuse, 542

10.24.3 Triazines par chromatographie gazeuse, 547

10.24.4 Phénylurées (et triazines) par chromatographie liquide, 551

10.24.5 Acides phénoxyalcanoïques par chromatographie gazeuse, 554

10.24.6 Glyphosate et AMPA par chromatographie liquide, 558

10.24.7 Aminotriazole par chromatographie gazeuse, 561

10.24.8 Méthodes multi-résidus par chromatographie gazeuse, 561

10.24.9 Méthode multi-résidus par chromatographie liquide, 565

10.25 Phénols **569**

10.25.1 Méthode à l'amino-4-antipyrine (indice phénol), 570

10.25.2 Méthode par spectrométrie infra-rouge, 573

10.25.3 Chlorophénols par chromatographie gazeuse, 573

10.25.4 Chlorophénols par chromatographie liquide haute performance, 576
10.25.5 Nitrophénols par chromatographie gazeuse, 576
10.25.6 Nonylphénols et alkylphénols, 578
10.25.7 Bisphénol A, 580
10.26 Phtalates **581**
10.27 PCB (Polychlorobiphényles) **582**
10.28 Résidus pharmaceutiques **583**
10.29 Tétrachloroéthylène et trihloroéthylène **585**
10.30 Trihalométhanes (THM) **585**

11 • Soufre et composés soufrés **587**
11.1 Soufre colloïdal libre **587**
11.2 Soufre et composés soufrés réducteurs **589**
11.3 Composés ionisés et réducteurs à base de soufre **592**
11.4 Sulfite et thiosulfate par chromatographie ionique **595**
11.5 Polysulfures **596**

12 • Résultats de l'analyse de l'eau **597**
12.1 Unités de mesure et notion d'équivalence **597**
12.1.1 Notion d'équivalence et de normalité, 597
12.1.2 Unités pondérales, 598
12.1.3 Degré français, 598
12.1.4 Titres propres aux analystes de l'eau, 599
12.2 Contrôle des résultats de l'analyse de l'eau **599**
12.2.1 Méthode du bilan ionique, 599
12.2.2 Méthode utilisant les titres, 600
12.2.3 Méthodes utilisant la conductivité, 601
12.3 Représentation graphique des résultats d'une analyse de l'eau **602**
12.3.1 Diagrammes à barres, 602
12.3.2 Équilibres calco-carboniques, 603
12.4 Présentation des résultats et bulletins d'analyse **603**
12.4.1 Prélèvement et expédition des échantillons, 604
12.4.2 Exemple de renseignements à fournir pour une analyse de l'eau, 605
12.4.3 Exemple de rapport d'analyse d'eau, 606

13 • Contrôle de la désinfection **611**
13.1 Désinfection **611**
13.1.1 Objectifs de la désinfection, 611
13.1.2 Critères d'évaluation de la désinfection, 611
13.1.3 Choix et conditions d'application des désinfectants, 615

13.2 Chlore et chloramines **616**

13.2.1 Chimie du chlore et des chloramines, 616

13.2.2 Analyse des solutions concentrées (eaux et extraits de Javel) par titrage iodométrique, 620

13.2.3 Dosage du chlore résiduel total, 622

13.2.4 Dosage du chlore résiduel total, libre ou combiné, 624

13.2.5 Demande en chlore, 637

13.3 Dioxyde de chlore **639**

13.3.1 Chimie et réactivité du dioxyde de chlore, 639

13.3.2 Préparation des solutions mères de dioxyde de chlore, 640

13.3.3 Analyse des solutions concentrées, 641

13.3.4 Dosage du dioxyde de chlore résiduel, 645

13.3.5 Demande en dioxyde de chlore, 654

13.4. Ozone **654**

13.4.1 Chimie de l'ozone, 654

13.4.2 Dosage de l'ozone dans l'air ozoné, 655

13.4.3 Dosage de l'ozone dans l'eau, 658

13.4.4 Demande en ozone, 662

13.5 Brome et iode **663**

13.5.1 Formes chimiques et utilisations, 663

13.5.2 Dosage du brome ou de l'iode résiduel par la méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD), 664

13.5.3 Dosage du brome ou de l'iode résiduel par ampérométrie, 664

13.6. Peroxyde d'hydrogène **664**

13.6.1 Formes chimiques et utilisations, 664

13.6.2 Analyse des solutions concentrées, 665

13.6.3 Dosage du peroxyde d'hydrogène résiduel par la méthode au sel de titane (méthode d'EISENBERG), 667

13.7 Acide peracétique **669**

13.7.1 Formes chimiques et utilisations, 669

13.7.2 Dosage de l'acide peracétique par méthode volumétrique (iodométrie et manganimétrie), 670

13.7.3 Dosage de l'acide peracétique résiduel par chromatographie liquide haute performance, 671

13.8 Chloroisocyanurates **672**

13.8.1 Formes chimiques et utilisations, 672

13.8.2 Dosage de l'acide isocyanurique et des chloroisocyanurates dans les eaux de piscines, 673

13.8.3 Dosage de l'acide isocyanurique en présence de chlore libre, 675

13.9 Polyhexaméthylène biguanide (PHMB) **675**

13.9.1 Formes chimiques et utilisations, 675

13.9.2 Dosages spectrométriques du PHMB, 676

Bibliographie 679

B

Analyse microbiologique des eaux

1 • Généralités 719

2 • Méthodes générales de prélèvement, transport et conservation 721

2.1 Matériel de prélèvement 721

2.1.1 Choix et stérilisation des récipients, 721

2.1.2 Appareils de prélèvement, 722

2.2 Méthodes générales de prélèvement 723

2.2.1 Prélèvement à un robinet, 723

2.2.2 Prélèvement dans un puits à l'aide d'un plongeur, 724

2.2.3 Prélèvement dans une rivière, 724

2.2.4 Prélèvement dans un lac ou une rivière profonde, 724

2.2.5 Prélèvement aux griffons des sources, 725

2.3 Prélèvements avec concentration de la population bactérienne (méthode de Moore) par adsorption sur de la gaze hydrophile 725

2.3.1 Prélèvement dans les eaux de surface, 725

2.3.2 Prélèvement au robinet de distribution, 726

2.4 Transport et conservation au laboratoire 727

3 • Méthodes générales d'examen bactériologique des eaux 729

3.1 Méthodes générales de dénombrement après concentration 729

3.1.1 Concentration in situ par adsorption, 729

3.1.2 Concentration au laboratoire par filtration sur membranes, 729

3.1.3 Dénombrement sur membrane filtrante, 731

3.2 Méthodes générales de dénombrement direct par numération des colonies après ensemencement sur (ou dans) une gélose nutritive 733

3.2.1 Caractères généraux, 733

3.2.2 Dénombrement par incorporation en gélose, 734

3.2.3 Dénombrement par étalement en surface, 735

3.3 Méthode générale de dénombrementen milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (NPP) 735

3.3.1 Méthodologie, 736
3.3.2 Systèmes d'ensemencement, 737
3.3.3 Avantages et inconvénients des dénombrements, sur milieux liquides, 745

4 • Bactéries indicatrices de contamination et d'efficacité de traitement 747

4.1 Dénombrement des germes totauxpar épifluorescence 747

4.2 Dénombrement des bactéries aérobies revivifiables (germes aérobies mésophiles,hétérotrophes) 749

4.2.1 Méthode par incorporation en milieu gélosé, 750
4.2.2 Méthode par ensemencement en surface sur milieu gélos, 753

4.3 Dénombrement des coliformes 754

4.3.1 Classification des coliformes – Intérêt et modalités de leur recherche, 754
4.3.2 Méthode de dénombrement par filtration sur membrane, 756
4.3.3 Méthode de détermination du nombre le plus probable (NPP)par inoculation de tubes en milieux liquides (ou fermentation en tubes multiples), 761
4.3.4 Dénombrement des ***Escherichia coli*** par ensemencement en milieu liquide (NPP) en microplaques, 764
4.3.5 Méthode simplifiée pour le dénombrement des ***Escherichia coli***, 766

4.4 Dénombrement des *Enterococcus* 768

4.4.1 Classification – Intérêt et modalités de leur recherche, 768
4.4.2 Méthode par filtration sur membrane, 769
4.4.3 Méthode par ensemencement en milieu liquide pour détermination du nombre le plus probable (méthode en tubes), 770
4.4.4 Méthode de dénombrement des ***Enterococcus*** par ensemencement en milieu liquide (NPP) sur microplaque, 772
4.4.5 Identification des streptocoques du groupe D, 775

4.5 Recherche et dénombrement des bactéries sulfito-réductrices et de leurs spores 775

4.5.1 Signification de la recherche de ces bactéries, 775
4.5.2 Méthode par incorporation en gélose, 777
4.5.3 Méthode par enrichissement en milieu liquide, 779
4.5.4 Méthode par filtration sur membrane, 781
4.5.5 Recherche et dénombrement des spores de ***Clostridium*** sulfito-réducteurs, 783

4.6 Recherche des bactériophages 784

5 • Bactéries spécifiques 787

5.1 Recherche de *Campylobacter jejuni* *787*

5.2 Recherche et dénombrement des *Legionella* et de *Legionella pneumophila* *788*

5.3 Recherche des leptospires 794

5.4 Recherche et dénombrementde *Pseudomonas aeruginosa* ***797***
5.5 Recherche des *Salmonella* **799**
5.6 Recherchedes staphylocoques pathogènes **810**
5.7 Recherche du vibrion cholérique et des *Vibrio* **812**
5.8 Recherche de *Yersinia enterolitica* **815**
5.9 Recherche des bactéries sulfato-réductrices (vibrions sulfato-réducteurs) **817**
5.9.1 Méthode de dénombrement sur milieux solides, 817
5.9.2 Méthode par ensemencement en milieux liquides, 818
5.10 Recherche et dénombrement des actinomycètes **819**

6 • Analyse virale **823**
6.1 Détection des virus dans l'eau **823**
6.1.1 Méthode de concentration sur laine de verre, 826
6.1.2 Méthode de concentration sur filtre en microfibres de verre, 830
6.1.3 Méthode de concentration sur poudre de verre, 832
6.1.4 Méthode de concentration des enterovirus dans les boues, 832
6.2 Reconcentration des virus (laine de verre et microfibre de verre) **834**
6.3 Isolement et numération des virus **835**
6.3.1 Méthode des plages, 835
6.3.2 Dénombrement par microméthode en milieu liquide (NPP), 836
6.4 Identification des virus **837**
6.4.1 Caractérisation des virus isolés, 837
6.4.2 Identification des enterovirus isolés, 837
6.4.3 Identification des souches vaccinales de poliovirus, 837
6.5 Méthodes moléculaires **837**

7 • Parasitologie **839**
7.1 Introduction **839**
7.2 Description du pathogène **840**
7.3 Méthode **840**
7.4 Mode opératoire **842**
7.4.1 Première concentration sur cartouche filtrante, 842
7.4.2 Évolution, 843
7.4.3 Récupération des parasites (réaction IMS), 845
7.4.3 Identification (morphologie et taille) et le dénombrement des parasites, 846
7.4.4 Expression des résultats, 848
7.4.5 Contrôle qualité, 848

8 • Les amibes libres **849**
8.1 Introduction **849**

8.2 Pathologie **849**
8.3 Domaine d'application **850**

Bibliographie **855**

C

Les indicateurs biologiques de la qualité des eaux

1 • Évaluation biologique de la qualité des eaux **865**
1.1 Cadre réglementaire **865**
1.2 Évaluation de l'état écologique des eaux **866**
1.3 Écotoxicologie en milieu aquatique **867**

2 • Les indices biologiques **871**
2.1 Indice biologique global normalisé (IBGN) **872**
2.2 Indice biologique macro invertébrés **878**
2.2.1 Indice macro invertébrés applicable aux petits cours d'eau, 878
2.2.2 Indice biologique global adapté aux grands cours d'eau (IBGA), 884
2.3 Indice biologique diatomique (IBD) **888**
2.4 Indice oligochète de bioindication des sédiments (IOBS) **893**
2.5 Indice biologique macrophytique en rivière (IBMR) **897**
2.6 Indice poissons rivière (IPR) **901**

3 • Biomasse végétale planctonique **905**
3.1 Chlorophylle et phéopigments **905**
3.1.1 Dosage des chlorophylles ***a*** et ***b*** par HPLC, 906
3.1.2 Dosage de la chlorophylle ***a*** et de l'indice phéopigments par spectrométrie d'absorption moléculaire, 907
3.2 Efflorescences de cyanobactéries **911**
3.2.1 Cyanobactéries et cyanotoxines, 911
3.2.2 Détection des proliférations, analyse des cyanobactéries, 912

4 • Les tests de toxicité ou bio essais **915**
4.1 Sélections des organismes tests **915**
4.2 Protocole général des méthodes d'essai **920**
4.3 Inhibition de la luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* **925**

4.4 Inhibition de croissance d'une population d'algue verte chlorococcale **932**
4.5 Inhibition de la mobilité du crustacé cladocère *Daphnia magna* **937**
4.6 Détermination de la toxicité létale vis-à-vis d'un poisson d'eau douce (*Brachydanio rerio*) **939**
4.7 Détermination de la toxicité aiguë d'une substance vis-à-vis de *Salmo gairdneri* **944**

5 • Méthodes biologiques pour le contrôle sur site et en continu de la toxicité des eaux **947**
5.1 Les tests biologiques utilisables sur site (ou toxkits) **948**
5.1.1 Les biodétecteurs disponibles : principes de base et objectifs, 948
5.1.2 Systèmes basés sur l'inhibition de la luminescence bactérienne, 950
5.1.3 Systèmes basés sur la fluorescence algale, 951
5.1.4 Systèmes basés sur l'activité photosynthétique algale, 952
5.1.5 Systèmes basés sur l'activité locomotrice de la Daphnie, 952
5.1.6 Systèmes basés sur le mouvement des valves des moules, 953
5.1.7 Systèmes basés sur le comportement de nage du poisson, 953
5.1.8 Systèmes utilisant des poissons électrogènes, 954
5.2 Les stations d'alerte **955**

6 • Test poisson (*Brachydanio rerio*) adapté à une pollution accidentelle **957**

Bibliographie **961**

D

Eaux résiduaires

1 • Généralités **965**
1.1 Prélèvements **965**
1.2 Principaux renseignements à fournir pour une analyse d'eaux usées **967**
1.3 Caractéristiques et composition des eaux usées **968**
1.4 Approches analytiques envisageables **969**

2 • Critères globaux de pollution **971**
2.1 Objectifs et principe des critères globaux **973**
2.2 Matières en suspension (MES et MVS) **974**
2.3 Turbidité **975**

2.4 Matières en solution **975**
2.5 Matières décantables **976**
2.6 Matières totales ou matières sèches (MS) **976**
2.7 Pouvoir oxydo-réducteur (EH et rH) **977**
2.8 Demande biochimique en oxygène (DBO) **978**
2.8.1 Méthode par dilution, 980
2.8.2 Méthode pour les échantillons non dilués, 985
2.8.3 Méthodes respirométriques (dites manométriques), 985
2.9 Demande chimique en oxygène (DCO) **986**
2.9.1 Détermination de la DC (méthode à reflux en système ouvert), 987
2.9.2 Indice DCO ou méthode ST-DCO (méthode à petite échelle en tube fermé), 992
2.10 Carbone organique total (COT) **994**
2.11 Demande totale en oxygène (DTO) **995**
2.12 Oxydabilité au permanganate de potassium **995**
2.13 Azote **995**
2.13.1 Azote Kjeldahl, 996
2.13.2 Azote minéral ou inorganique, 996
2.13.3 Azote total et organique (nouveau), 996
2.14 Phosphore **997**
2.15 Test de putrescibilité au bleu de méthylène **997**
2.16 Biodégradabilité des eaux usées **997**
2.16.1 Méthode utilisant les paramètres globaux DCO et DBO, 997
2.16.2 Essai de simulation de boues activées, 998
2.17 Matières oxydables **1001**
2.18 Métox **1002**
2.19 Matières inhibitrices **1003**
2.20 Analyse UV multiparamètre **1003**

3 • Dosages particuliers **1007**
3.1 Agents de surface **1008**
3.1.1 Agents de surface anioniques, 1008
3.1.2 Agents de surface cationiques, 1008
3.1.3 Agents de surface non ioniques, 1010
3.2 AGV (Acides gras volatils) **1012**
3.3 AOX (et TOX) **1012**
3.4 Cyanates **1013**
3.5 Dosage des cyanures **1014**
3.5.1 Dosage des cyanures dits « libres », 1015
3.5.2 Dosage des cyanures dits « aisément libérables », 1018
3.5.3 Dosage des cyanures dits « totaux », 1020

3.6 EDTA sel tétrasodique **1026**
3.6.1 Sels tétrasodiques de l'EDTA, 1026
3.6.2 Sels tétrasodiques de l'EDTA non chélaté, 1028
3.7 Huiles émulsifiées **1029**
3.8 Hydrazine **1031**
3.9 Hydrocarbures **1033**
3.10 Matières organiques extractibles (huiles, graisses) **1033**
3.11 Métaux lourds et minéraux divers **1034**
3.12 Morpholine **1035**
3.13 Phénols **1037**
3.14 Soufre réducteur **1037**
3.14.1 Composés soufrés réducteurs par titrimétrie, 1038
3.14.2 Sulfures par méthode iodométrique, 1039
3.14.3 Sulfures par méthode potentiométrique, 1041
3.15 Thiocyanates **1043**

4 • Radioactivité **1045**
4.1 Généralités **1045**
4.2 Rejets d'effluents radioactifs des installations nucléaires **1045**
4.2.1 Réglementation – Autorisation des rejets, 1046
4.2.2 Réglementation – Contrôle et vérifications, 1047
4.2.3 Préparation et analyse des échantillons d'effluents liquides, 1048
4.2.4 Limites des rejets radioactifs liquides, 1049
4.2.5 Rejets génériques d'un REP et d'une usine de retraitement, 1051
4.2.6 Impacts temporels de rejets radioactifs en mer, 1052
4.3 Gestion des effluents radioactifs dans les unités de médecine nucléaire **1053**
4.3.1 Rejets liquides radioactifs des laboratoires, 1053
4.3.2 Rejets liquides radioactifs des sanitaires des chambres protégées (dose d'iode d'activité > 740 MBq), 1053
4.3.3 Rejets liquides radioactifs des sanitaires de l'unité de médecine nucléaire, 1054
4.3.4 Activité des effluents à l'émissaire de l'établissement, 1054

5 • Parasitologie **1055**
5.1 Dénombrement des œufs d'helminthes dans les eaux usées **1055**
5.1.1 Méthode par sédimentation coupléeà la méthode diphasique de BAILENGER (1979), 1055
5.1.2 Méthode par flottation-centrifugation, 1056
5.2 Dénombrement des œufs d'helminthes dans les boues résiduaires **1057**

5.2.1 Méthodes diphasiques, 1057
5.2.2 Méthodes par flottation, 1057
5.2.3 Méthodes combinées (flottation et diphasique), 1059

6 • Vérification du fonctionnement d'une station d'épuration 1063
6.1 Capacité d'oxygénation 1063
6.2 Indice de Mohlman 1065
6.3 Indice de boues 1066
6.4 Activité de la biomasse : mesure respirométrique 1067
6.5 Essai d'inhibition de la respiration des boues activées 1069

Bibliographie 1073

E

Analyse de l'eau de mer

1 • Généralités 1079

2 • Mesure du pH 1085

3 • Salinité 1087
3.1 Dosage des halogénures 1088
3.1.1 Méthode de Mohr et adaptation de Knudsen, 1088
3.1.2 Méthode potentiométrique, 1089
3.2 Mesure de la conductivité électrique 1092

4 • Alcalinité 1095
4.1 Alcalinité totale 1095
4.1.1 Méthode de Dyrssen, 1095
4.1.2 Méthode de Anderson et Robinson, 1096
4.2 Alcalinité carbonatée 1098
4.3 Carbone minéral total 1098
4.4 Pression partielle en CO_2 et concentration en CO_2 libre 1098
4.5 Concentration en hydrogénocarbonates 1099
4.6 Concentration en carbonates 1099

5 • Anions 1109
5.1 Bore 1109

5.2 Bromures **1109**
5.3 Cyanures **1110**
5.4 Fluor **1110**
5.5 Nitrites **1111**
5.6 Nitrates **1113**
5.6.1 Méthode par réduction au cadmium, 1113
5.6.2 Méthode par flux continu, 1115
5.7 Composés phosphorés **1115**
5.7.1 Orthophosphates, 1116
5.7.2 Phosphore total, 1116
5.7.3 Phosphore organique, 1116
5.7.4 Polyphosphates, 1117
5.8 Silicates **1118**
5.8.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 1118
5.8.2 Méthode par flux continu, 1120
5.9 Sulfures **1121**

6 • Cations **1125**

7 • Éléments à l'état de traces **1127**
7.1 Concentration par cocristallisation **1127**
7.2 Concentration par extraction liquide-liquide **1129**
7.3 Concentration par coprécipitation **1130**
Coprécipitation par l'hydroxyde ferrique, 1132
7.4 Concentration par résines **1132**
7.5 Détermination des éléments à l'état de traces par spectrométrie d'absorption atomique **1133**
7.6 Détermination des éléments à l'état de traces par polarographie à redissolution anodique **1133**

8 • Constituants organiques **1137**
8.1 Azote organique **1138**
8.1.1 Méthode par dosage de l'ammonium après minéralisation, 1138
8.1.2 Méthode par dosage des nitrites et nitrates après photo-oxydation, 1139
8.1.3 Méthode par dosage des nitrates après oxydation par le persulfate de potassium sous pression, 1139
8.1.4 Méthode de dosage de l'azote total par oxydation à haute température, 1141
8.2 Carbone organique **1142**
8.3 Demande biochimique en oxygène (DBO) **1142**
8.4 Demande chimique en oxygène (DCO) **1142**
8.5 Oxydabilité au permanganate de potassium

(indice permanganate) **1143**

9 • Dosages particuliers **1145**

9.1 Oxygène dissous **1145**

9.1.1 Méthode de Winkler (modifiée par Alsterberg), 1145

9.1.2 Méthode potentiométrique, 1147

9.2 Résidus d'hydrocarbures **1148**

9.2.1 Méthode par spectrométrie infrarouge, 1148

9.2.2 Méthode par fluorimétrie, 1149

9.3 Estimation de la radioactivité due aux émetteurs gamma **1151**

9.4 Uranium **1152**

9.5 Chlorophylle **1153**

9.5.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 1154

9.5.2 Méthode par spectrofluorimétrie, 1156

9.5.3 Méthode par chromatographie liquide haute performance, 1157

9.6 Phéophytine **1159**

9.6.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 1159

9.6.2 Méthode par fluorimétrie, 1161

10 • La mesure des Matières Inhibitrices (MI) en eau de mer **1163**

10.1 Notion d'écotoxicité ou l'effet des produits **1163**

10.2 Les bio-essais : Principe **1163**

10.3 Détermination de l'écotoxicité des produits et des eaux **1164**

10.4 Application aux échantillons d'eau de mer **1165**

10.5 Le test « daphnie » **1165**

10.6 Le test « artémia » **1166**

10.7 Le test sur des bactéries luminescentes **1166**

10.8 Autres indicateurs biologiques **1167**

10.9 Bio-essais *in situ* **1167**

F

Analyse d'un dépôt et d'un sédiment

1 • Analyse d'un dépôt **1171**

1.1 Évaluation de la matière organique **1171**

1.2 Recherche et dosage des cations **1171**

1.3 Recherche et dosage des anions **1172**

2 • Analyse d'un sédiment 1173

2.1 Préparation de l'échantillon 1173

2.2 Examens physico-chimiques 1174

2.2.1 Détermination de l'humidité et de la perte au feu, 1174

2.2.2 Détermination de la densité réelle, 1174

2.2.3 Détermination de la fraction inférieure à 50 µm, 1175

2.2.4 Détermination du *p*H, 1175

2.3 Dosages particuliers 1176

2.3.1 Dosage de l'anhydride carbonique total, 1176

2.3.2 Dosage des éléments traces métalliques mobilisables, (Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Pb, As, Cd, Se), 1176

2.3.3 Détermination du pourcentage d'insolubles, 1177

2.3.4 Dosage du mercure, 1177

2.3.5 Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB), 1178

2.3.6 Dosage des résidus d'hydrocarbures, 1180

G

Interprétation des résultats analytiques

1 • Généralités 1187

1.1 Paramètres physicochimiques de la qualité des eaux 1187

1.1.1 Descripteurs de l'aspect physique d'une eau, 1187

1.1.2 Paramètres descripteurs de la charge organique d'une eau, 1188

1.1.3 Éléments minéraux des eaux, 1190

1.1.4 Éléments mineurs, 1192

1.1.5 Micropolluants organiques, 1193

1.2 Paramètres microbiologiques 1193

1.3 Notion de risque acceptable 1195

1.4 Démarche d'évaluation des risques 1195

1.5 Construction des valeurs guides pour les substances chimiques 1198

2 • Interprétation des résultats de l'analyse physicochimique 1203

2.1 Principales substances chimiques et facteurs analysés 1203

Acétonitriles halogénés, 1203
Acides chloracétiques, 1203
Acide isocyanurique et acide di et trichloroisocyanurique, 1204
Acrylamide, 1204
Adipate de di (2-éthylhexyle), 1205
Agents de surface (surfactifs, ten5Alcalinité, 1207
Aldéhydes, formaldéhyde, 1208
Alkylphénols, 1208
Aluminium, 1208
Amiante, 1211
Ammonium, 1212
Anhydride carbonique, 1212
Antimoine, 1212
Argent, 1213
Arsenic, 1214
Azote (diazote dissous), 1216
Azote ammoniacal (ammonium), 1217
Azote Kjeldahl (NK), 1219
Baryum, 1221
Benzène, 1221
Béryllium, 1222
Bismuth, 1222
Bore (borate), 1223
Brome (bromures), 1224
Bromates, 1225
Cadmium, 1226
Calcium, 1228
Carbone organique total, 1229
Carbone organique dissous biodégradable (CODB), 1230
Cérium, 1230
Césium, 1230
Césium stable, 1230
Césium radioactif, 1231
Chloracétone, 1232
Chloral (hydrate), 1232
Chlorate, 1232
Chlore résiduel, 1232
Chlorite, 1235
Chlorobenzènes, 1235
Monochlorobenzène, 1236
1,2- et 1,4-dichlorobenzènes, 1236
Trichlorobenzènes, 1236
Hexachlorobenzène, 1236
Chlorophénols, 1237
2-chlorophénol, 2,4-dichlorophénol, 1237
2,4,6-trichlorophénol, 1237
Pentachlorophénol, 1237
Chloropicrine (trichloronitrométhane), 1238
Chlorures, 1238
Chlorure de cyanogène, 1239
Chlorure de vinyle, 1240
Chrome, 1240
Cobalt, 1241
Conductivité, 1242
Couleur, 1244
Cuivre, 1244
Cyanogène (chlorure), 1246
Cyanures, 1246
DBO_5 (demande biochimique en oxygène), 1247
DCO (demande chimique en oxygène), 1249
Dichloroisocyanurate de sodium, 1249
Dioxine, 1250
Dioxyde de chlore, 1251
Dureté totale, 1251
EDTA (acide éthylènediamine tétracétique), 1253
Étain (et composés organostanniques), 1253
Dialkylétain et tributylétain, 1254
Oxyde de tributyl étain, 1255
Fer, 1255
Fluor (Fluorure), 1257
Formaldéhyde, 1260
Gallium, 1261
Germanium, 1261
Glycols, éthylène glycol, 1261
Graisses, huiles, 1262
Haloformes, halométhanes, 1262
Hydrazine, 1262
Hydrocarbures, 1263
Hydrocarbures benzéniques (benzène, toluène, xylène, éthylbenzène), 1264
Hydrocarbures chlorés aliphatiques, 1265
Dichlorométhane (chlorure de méthylène) CH_2Cl_2, 1266
Dichloropropane, 1266
Tétrachlorure de carbone (tétrachlorométhane) CCl_4, 1267
Dichloroéthane, 1267
Trichloroéthane, 1267
Dibromure d'éthylène (1,2-dibromométhane), 1268

Dichloroéthylène, 1268
Trichloroéthylène (trichlorure d'acétylène…) CHCl = CCl_2, 1268
Tétrachloroéthylène (perchloréthylène) CCl_2 = CCl_2, 1269
Hydrocarbures polycycliques aromatiques, 1269
Hydrogène sulfuré, 1270
Hydrotimétrie (degré hydrotimétrique), 1271
Indium, 1272
Indium stable, 1272
Indium radioactif, 1272
Iode, 1273
Iode stable, 1273
Iode radioactif, 1277
Lanthanides, 1278
Lithium, 1279
Magnésium, 1280
Manganèse, 1281
Matières humiques (acide humique et acide fulvique)/Matières organiques, 1282
Matières en suspension, 1284
Mercaptans ou thiols, 1285
Mercure, 1285
Microcystine LR, 1288
Minéralisation globale, 1289
Molybdène, 1291
Nickel, 1292
Nitrates, 1293
Nitrilotriacétate de sodium (NTA), 1296
Nitrites, 1297
Nitrosamines, nitrosamides (composés N-nitrosés), 1299
Odeur, 1300
Or, 1301
Organochlorés volatils (haloformes, halométhanes), 1301
Oxydabilité au permanganate ou indice permanganate (IP), 1303
Oxygène dissous, 1304
Ozone, 1305
Persulfates, 1306
Perturbateurs endocriniens, 1307
Pesticides (produits phytosanitaires), 1312
Insecticides organochlorés, 1317
Insecticides organophosphorés, 1321
Carbamates, 1322
Herbicides, 1323
pH, 1329
Phénols (indice phénol), 1330
Phosphore (composés phosphorés), 1332
Phtalates ou esters phtaliques, 1334
Plomb, 1334
Plutonium, 1339
Polychlorobiphényles (PCB) et polychloroterphényles (PCT), 1342
Potassium, 1343
Potentiel d'oxydo-réduction (potentiel redox), 1344
Pouvoir colmatant, 1345
Radioactivité, 1346
Radium, 1350
Radon, 1351
Résidus pharmaceutiques, 1353
Résidus secs, 1354
Résistivité électrique, 1354
rH, 1355
Saveur, 1355
Sélénium, 1357
Silice, 1358
Sodium, 1359
Solvants chlorés, 1362
Strontium, 1362
Strontium stable, 1362
Strontium radioactif, 1362
Styrène, 1364
Sulfates, 1364
Sulfites, 1365
Sulfures, hydrogène sulfuré, 1366
Sulfure de carbone, 1367
TA, TAC, 1367
Température, 1368
Thallium, 1372
Thiocyanates, 1372
Thorium, 1372
Titane, 1373
Trihalométhanes, 1374
Tritium, 1374
Turbidité, 1377
Uranium, 1378
Vanadium, 1380
Vinyle, 1381
Zinc, 1381

2.2 Substances prioritaires, substances dangereuses, substances pertinentes **1382**

2.3 Limites de toxicité **1390**

3 • Interprétation des résultats de l'analyse microbiologique **1395**

3.1 Risque de contamination microbiologique par les eaux **1395**

3.2 Interprétation en fonction de la nature du micro-organisme recherché **1400**

3.2.1 Micro-organismes indicateurs de pollution, 1400

3.2.2 Autres micro-organismes pathogènes, 1402

3.2.3 Virus, 1402

3.3 Interprétation en fonction de l'utilisation de l'eau **1403**

3.3.1 Eau destinée à la consommation humaine, 1403

3.3.2 Eaux de baignades aménagées en eau vive : mer, rivière, 1406

3.3.3 Eaux de piscine, 1408

3.3.4 Eaux thermales, 1408

3.3.5 Eaux destinées à la conchyliculture, 1409

3.3.6 Eaux destinées à des utilisations agricoles/ réutilisation des eaux usées, 1409

4 • Aspects réglementaires **1415**

4.1 Eaux naturelles **1416**

4.1.1 Évaluation de la qualité des eaux de rivières : le SEQ-EAU, 1417

4.1.2 Les eaux de baignades, 1418

4.1.3 Les eaux souterraines, 1419

4.2 Les lois françaises sur l'eau **1421**

4.3 Réglementation relative aux eaux destinées à l'alimentation humaine **1424**

H

Mémento du laboratoire d'analyse d'eau

1 • Grandeurs et unités de mesure **1431**

1.1 Multiples et sous-multiples d'unités **1431**

1.2 Unités de mesure spécifiques à la chimie des eaux **1431**

1.3 Unités anglo-saxonnes **1432**

1.4 Conversion des degrés Celsius et Fahrenheit **1434**

1.5 Degrés Baumé et densité **1434**

2 • Les éléments chimiques 1435

2.1 Classification périodique des éléments 1435

2.2 Masses atomiques relatives 1438

2.3 Étymologie des éléments 1439

3 • Mémento chimique 1443

3.1 Acides et bases 1443

3.1.1 Notion de normalité, 1443

3.1.2 Concentrations des acides et bases usuels, 1443

3.1.3 Dosages acide/base, 1445

3.1.4 Constantes d'acidité des couples acides/bases usuels, 1446

3.1.5 Valeurs indicatives du pH de quelques solutions pures, 1447

3.2 Solutions tampon 1447

3.3 Indicateurs colorés 1449

3.4 Dosages d'oxydo-réduction 1449

3.4.1 Dosage d'une solution de permanganate de potassium à l'aide d'une solution d'acide oxalique, 1449

3.4.2 Dosage d'une solution de permanganate de potassium à l'aide d'une solution de sulfate ferreux, 1452

3.4.3 Dosage d'une solution de thiosulfate de sodium à l'aide d'une solution de permanganate de potassium, 1453

3.4.4 Dosage d'une solution de dichromate de potassium à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium, 1453

3.4.5 Dosage d'une solution arsénieuse à l'aide d'une solution d'iode, 1454

3.5 Mélanges réfrigérants 1455

3.6 Caractéristiques de quelques eaux minérales françaises 1455

4 • Mémento sur la radioactivité 1459

4.1 Termes et unités radiologiques utilisés 1459

4.2 Table de conversion Curies-Becquerels 1460

4.3 Période radioactive et équivalence de masse des principaux radionucléides 1460

4.4 Radioexposition moyenne annuellede l'homme, naturelle et artificielle 1463

4.5 Limites de doses pour les travailleurs exposés et pour les personnes du public 1464

4.6 Niveaux maximaux admissibles de contamination radioactive pour les denrées alimentaires et les aliments pour bétail 1465

5 • Utilisation des statistiques dans l'analyse hydrologique 1467

5.1 Notions élémentaires de statistiques 1467

5.2 Choix d'une méthode analytique 1468

5.3 Choix d'une méthode d'échantillonnage **1473**
5.4 Contrôle de qualité en analyse hydrologique **1477**
5.4.1 Les critères de qualité, 1478
5.4.2 Organisation d'un contrôle de qualité, 1483
5.5 Quelques définitions **1486**
5.6 Table de limites de confiance pour le dénombrement de micro-organismes **1487**

Annexes

Les acteurs français de la gestion de l'eau et de l'environnement **1493**
Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire (MEEDDAT), 1493
Les agences de l'eau, 1493
Les services déconcentrés de l'État, 1494
Autres organismes impliqués dans la gestion de l'eau, 1496
Les syndicats professionnels et les associations impliquées dans la gestion de l'eau, 1498
Ressources documentaires en analyse hydrologique **1502**
Glossaire **1506**
Index alphabétique **1511**

A

Analyse physico-chimique des eaux naturelles

1 • GÉNÉRALITÉS

1.1 Prélèvement de l'eau et conservation

En dehors des études de contrôle et des recherches scientifiques, la plupart des prélèvements d'eau résultent de l'application des textes législatifs et réglementaires ayant pour objet l'hygiène publique, la lutte contre la pollution, la surveillance des installations classées et des stations de traitement, la police des eaux, etc.

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté ; il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (gaz dissous, matières en suspension, etc.). Étant donné que dans la plupart des cas le responsable du prélèvement n'est pas l'analyste, il convient que le préleveur ait une connaissance précise des conditions du prélèvement et de son importance pour la qualité des résultats analytiques. Globalement, il est donc nécessaire de mettre en place une organisation structurée, de disposer d'un personnel qualifié, de développer une méthodologie adaptée à chaque cas, de procéder à un choix judicieux des points de prélèvement et d'utiliser le matériel convenable. De toute façon, les résultats de l'analyse ne seront exploitables que si le prélèvement a un caractère représentatif ; pour cela, se reporter au chapitre concernant l'utilisation des statistiques en hydrologie.

En outre, s'il est bien évident qu'un prélèvement correct est indispensable à l'obtention de résultats analytiques significatifs, il est tout aussi important de connaître le devenir de l'échantillon entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire.

Le *prélèvement instantané* n'est qu'un reflet de la composition de l'eau qui a un caractère évolutif, surtout vis-à-vis des phénomènes de pollution. Une meilleure appréciation de ces variations peut résulter d'une multiplication des prélèvements, mais ceci constituera une sujétion matérielle et financière. *Le prélèvement en continu*, grâce à des dispositifs automatiques dont il existe de nombreux types dans le commerce peut donner une représentation moyenne de ces phénomènes qui n'est toutefois pas une photographie de l'amplitude des variations, celles-ci pouvant être écrêtées. Les erreurs susceptibles de rendre difficile l'interprétation des résultats sont plus souvent liées à un échantillonnage non satisfaisant qu'à des erreurs analytiques proprement dites. En pratique, le préleveur évitera de constituer un échantillon moyen s'étalant sur plus de 24 heures.

Le *matériel de prélèvement* doit faire l'objet d'une attention particulière. L'emploi de flacons neufs en verre borosilicaté ou en polyéthylène haute densité (PEHD) avec des bouchons en téflon lavés avec une solution

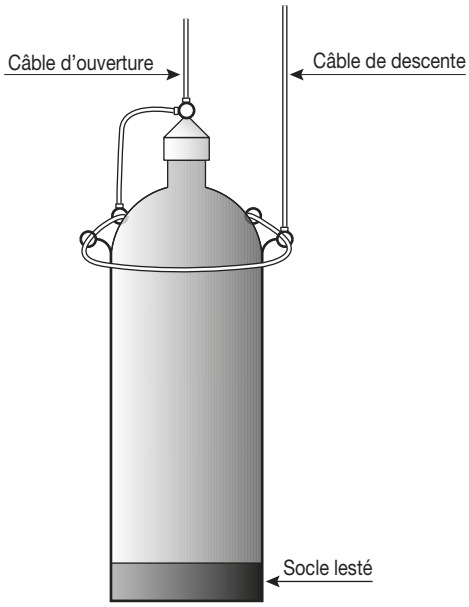
détergente à chaud et rincés avec de l'eau déionisée puis séchés, est recommandé. Ces flacons sont susceptibles de réutilisation après un lavage adéquat si l'échantillon n'est pas excessivement pollué. Les flacons destinés au prélèvement pour l'analyse des éléments minéraux seront traités à l'acide nitrique environ *N*, puis rincés abondamment, égouttés, fermés mais non séchés. Le maintien d'une atmosphère humide permet, par rinçage du flacon au moment du prélèvement, d'éliminer une contamination éventuelle du flacon. Pour les lavages, il convient d'employer des détergents sans phosphates, bore, etc., pour ne pas contaminer les échantillons. L'emploi de mélange sulfochromique est à bannir du fait de la transformation du chrome 6 en chrome 3 facilement adsorbé par le verre et en raison de la toxicité du réactif. S'il s'agit de doser des éléments organiques, le traitement par détergent approprié pour laboratoire suivi des rinçages habituels est à pratiquer. Au moment du prélèvement, pour l'analyse chimique, les flacons seront de nouveau rincés 3 fois avec de l'eau à analyser puis remplis jusqu'au bord. Le bouchon sera placé de telle façon qu'il n'y ait aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport.

L'usage de flacons jetables en verre ou en matière plastique s'est largement répandu, en raison des facilités qu'ils présentent pour le transport et de la possibilité de leur usage unique étant donné leur prix compétitif. Leur nettoyage étant délicat, leur réemploi poserait des problèmes de contamination résiduelle. Les flacons neufs doivent normalement être traités à l'acide nitrique dilué au 1/10, rincés à l'eau déionisée jusqu'à cessation de toute acidité au papier de tournesol (*). En raison d'une possibilité d'adsorption de certains produits organiques (hydrocarbures, pesticides) et de certains éléments minéraux (phosphore...), leur emploi n'est pas recommandé pour ces dosages. Leur perméabilité peut également présenter quelques inconvénients pour le dosage des gaz dissous. Toutefois, les prélèvements d'eau destinés à une mesure de radioactivité seront obligatoirement effectués dans des flacons en polyéthylène. Enfin, sauf cas très particulier, l'utilisation de récipients métalliques est à déconseiller, en raison des problèmes de corrosion. Pour les analyses bactériologiques, les flacons en verre seront stérilisés par la chaleur, soit à l'autoclave à 120 °C pendant 1 heure, soit au four Pasteur à 180 °C pendant 1 h 30. La stérilisation des flacons en matière plastique peut s'effectuer par irradiation (rayonnements γ ou électrons accélérés) avec une dose intégrée de 25 kGy (2,5 Mrad). Dans toute la mesure du possible, il convient d'éviter le réemploi des flacons et surtout le mélange des flacons utilisés pour les analyses d'eau potable avec ceux utilisés pour des eaux industrielles, des eaux de rejets, des eaux de surface, etc.

Le *mode de prélèvement* variera suivant l'origine de l'eau. Dans le cas d'une rivière, d'une nappe ouverte, d'un réservoir, d'une citerne, la bouteille sera plongée à une certaine distance du fond (50 cm) et de la surface, assez loin des rives ou des bords ainsi que des obstacles naturels ou artificiels, en dehors des zones mortes ou des remous, et en évitant la remise en suspension des dépôts.

Dans le cas d'un lac ou d'une retenue d'eau, il y a lieu de choisir plusieurs points de prélèvements et, en chacun d'eux, de prélever plusieurs échan-

(*) Cette disposition ne s'applique pas au verre jetable.



Exemple de système simple de prélèvement manuel en eau profonde

tillons à différentes profondeurs pour tenir compte de l'hétérogénéité verticale et horizontale. S'il est nécessaire de se servir d'un vase intermédiaire pour le prélèvement, ce vase sera au préalable lavé et rincé soigneusement. Il existe des dispositifs permettant d'ouvrir les flacons à un niveau déterminé et ainsi de prélever l'eau en un point donné. Le mélange de plusieurs échantillons ainsi recueillis peut donner un échantillon moyen.

Dans le cas d'une eau souterraine, deux cas très différents peuvent se présenter. S'il s'agit d'un captage ou d'un puits équipé d'une pompe, les prélèvements se situeront normalement au terme d'une épreuve de pompage ininterrompue d'une durée totale de l'ordre de 30 heures ou, tout au moins à la fin de la dernière journée d'une série de trois journées consécutives de pompage de 10 heures. S'il s'agit d'une source aménagée, effectuer le prélèvement au trop plein, sinon il convient de procéder à un aménagement provisoire.

Dans le cas de prélèvement à un robinet, si le but est le contrôle de l'eau distribuée, il est indispensable d'attendre que l'eau en stagnation dans les canalisations soit éliminée. En pratique, il convient d'ouvrir le robinet à débit maximum pendant 5 à 10 secondes puis de le ramener à un débit moyen pendant 2 minutes. Présenter alors la bouteille sous le robinet sans l'avoir refermé. Par contre, si le but de l'analyse est de contrôler la concentration de certains éléments relargués par la canalisation, tels que zinc, plomb, cuivre, il convient de laisser l'eau stagner dans celle-ci pendant toute la nuit et de prélever l'eau immédiatement à l'ouverture du robinet.

Il existe dans le commerce des systèmes de prélèvement automatiques permettant d'effectuer des prélèvements représentatifs en fonction du

temps et des débits ; ils sont dans ce dernier cas asservis à leur débit-mètre fixe ou mobile.

Le volume nécessaire pour une analyse complète d'eau peut varier de 2 à 5 litres, non compris les prélèvements spéciaux. Sauf pour certaines déterminations particulières à pratiquer sur place (oxygène dissous, *p*H, potentiel d'oxydo-reduction, température), l'analyse n'a pas un caractère extemporané.

Le prélèvement subira obligatoirement un certain temps de transport et une éventuelle attente au laboratoire avant la mise en route analytique. Ces temps devront être réduits au minimum. Pendant cette période, des phénomènes chimiques et bactériologiques peuvent conduire à des précipitations secondaires par changement de valence, des adsorptions sur les parois des récipients, des photodécompositions, des volatilisations, des biodégradations, d'où la nécessité d'employer des *adjuvants de conservation* et de réunir des conditions de température et d'obscurité favorables. En particulier, les éléments minéraux considérés comme toxiques ayant des concentrations maximales admissibles très faibles sont susceptibles d'erreurs de dosages significatives. En effet, ces éléments peuvent exister à plusieurs degrés d'oxydation, sous forme soluble, insoluble, complexée, ou encore plus ou moins adsorbée sur les matières en suspension.

Dans le cas d'analyses de métaux lourds, deux cas peuvent se présenter : s'il s'agit du dosage total de l'élément soluble et insoluble, le prélèvement sera effectué en présence d'acide nitrique de très grande pureté, s'il s'agit de doser le métal en solution, le prélèvement sera d'abord filtré avant l'addition d'acide nitrique.

D'une façon générale, *le transport* à la température de 4 °C et à l'obscurité dans des emballages isothermes permet d'assurer une conservation satisfaisante. Dans les eaux ayant subi un traitement de désinfection, le chlore et les composés chlorés peuvent entraîner une perturbation dans les dosages, en particulier dans les dosages par spectrométrie d'absorption moléculaire et l'analyse bactériologique. Cet oxydant pourra être éliminé par de petites quantités de thiosulfate de sodium introduit dans le deuxième cas avant la stérilisation du flacon de prélèvement. De même, les traitements au cuivre ou à l'argent étant susceptibles de gêner le contrôle bactériologique, ces éléments seront bloqués par l'ajout d'une solution d'acide éthylène-diamine tétracétique.

Pratiquement, il convient de se reporter au tableau ci-joint pour le choix de récipients à utiliser, pour le volume minimum à prélever en fonction du type d'analyse, et pour les dispositions à prendre pour la conservation des prélèvements.

Avant de procéder aux opérations analytiques, il est essentiel que toutes les dispositions soient prises pour que les résultats donnent bien une représentation exacte de la composition de l'eau. Le jugement et l'expérience de l'analyste auront donc une très grande importance pour préciser l'origine de la turbidité et définir les opérations ultérieures à pratiquer.

En ce qui concerne les eaux provenant des réseaux d'alimentation, on se trouve rarement en présence d'une turbidité significative et de précipitations accessoires. L'analyse pourra alors être pratiquée directement sur l'échantillon. Par contre, les eaux de surface et de certains captages peuvent

donner lieu à des prélèvements ayant une turbidité marquée, que celle-ci soit pré-existante au moment du prélèvement ou qu'elle se soit développée à la suite de phénomènes secondaires. De toute façon, en présence d'une turbidité significative, les résultats analytiques pourront être faussés par le manque d'homogénéité du prélèvement même après remise en suspension, par la difficulté des mesures effectuées par spectrophotométrie d'absorption moléculaire, par gravimétrie, etc. ; il sera alors nécessaire de séparer les matières en suspension. L'analyste, qui aura fait son choix dans les méthodes proposées, sera à même de retenir le procédé le mieux adapté et le plus susceptible de fournir un échantillon représentatif de l'eau. Il aura cependant à se préoccuper de la fixation de certains éléments à l'état de traces sur les précipités et les dispositifs filtrants et il devra indiquer, dans le bordereau d'analyse, le mode opératoire choisi. Pour la filtration il est fréquemment fait usage de membranes d'un diamètre de pores de 0,45 μm. Il est admis qu'après une filtration ce type de filtrat ne contient plus de formes particulaires. Il conviendra de s'assurer par des tests que le filtre utilisé n'est pas susceptible d'introduire des éléments traces.

La périodicité des analyses est fonction :

– de la population desservie ; plus celle-ci sera grande, plus la fréquence d'analyses sera accrue ;

– de la qualité de l'eau proprement dite, en particulier si celle-ci est soumise à des pollutions permanentes ou occasionnelles ;

– du choix des paramètres analytiques représentatifs de la pollution générale comme l'oxygène dissous, les matières en suspension, les germes de pollution fécale, etc., ou d'une pollution particulière liée à des rejets (métaux toxiques, produits organiques, etc.).

La systématisation d'un contrôle analytique fréquent reposant sur des analyses poussées se heurte rapidement à des problèmes matériels et financiers sans forcément permettre la solution des problèmes d'hygiène publique proprement dits.

Pour faciliter le travail de l'analyste et l'exploitation des résultats tout en évitant les erreurs, il convient d'étiqueter ou de numéroter très soigneusement les prélèvements. Chaque flacon doit être accompagné d'une fiche signalétique permettant de rassembler les renseignements utiles au laboratoire ainsi que les observations relevées au cours des opérations. Il est aujourd'hui possible de transmettre des informations saisies sur le terrain directement au laboratoire par voies informatiques.

La liste suivante n'a pas un caractère exhaustif, mais elle peut servir d'aide-mémoire au responsable.

Conservation des prélèvements

Caractéristique ou élément analysé	Récipient	Technique de conservation	Volume minimum du prélèvement (en mL)	Température de conservation (en °C)	Effectuer la mesure avant...
Acidité – alcalinité	P ou Vb	0	200	4	24 h (obsc.)
Ammonium	P ou V	0	200	4	48 h (obsc.)
		Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	200	4	21 jours
Anhydride carbonique		Mesure *in situ* conseillée			
	P ou V	0	200	4	24 h
AOX	Vb	Acide nitrique q.s.p. pH < 2	250 Flacon rempli complètement et bouché	4	5 jours
	P	congeler	250	- 20	1 mois
Azote Kjeldahl	P ou V	Congeler	250	- 20	1 mois
		Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	250	4	1 mois
Bore	P	0	100	4	1 mois
Bromates	P ou V	0	100	4	1 mois
Carbone Organique Total	P	Congeler	100	- 20	1 mois
	V	Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	100	4	7 jours
Chlorates	P ou V	0	500	4	7 jours
Chlorites	P ou V	0	500	4	5 minutes
Chlorophylle	V brun	0	1 000	4	24 heures
	P	Filtration extraction éthanol à chaud et congeler	1 000	- 20	1 mois
Chlorures	P ou V	0	100	–	1 mois
Composés organiques non volatils, dont pesticides:					
– organo-halogénés	V	0	1 000	4	5 jours (obsc.)
– organo-phosphorés	V	0	1 000	4	48 h (obsc.)
– organo-azotés	V	0	1 000	4	5 jours (obsc.)
Exceptions: glyphosate par ex.	P	0	1 000	4	24 h
Composés organiques volatils: BTEX (**)	V (septum PTFE)	acide sulfurique q.s.p. pH < 2 remplir complètement pour chasser l'air	100	4	7 jours
THM (**)	V (septum PTFE)	0 remplir complètement pour chasser l'air	100	4	14 jours
Conductivité	P ou Vb	Mesure *in situ* de préférence	100	4	24 h (obsc.)
Cyanures totaux	P	Soude q.s.p. pH > 12	500	4	14 jours
Cyanures facilement libérables	P	Soude q.s.p. pH > 12	500	4	24 h (obsc.)
DBO	P ou V	Remplir complètement	1 000	4	24 h (obsc.)
	P	Congeler	1 000	- 20	1 mois

Conservation des prélèvements (suite)

Caractéristique ou élément analysé	Récipient	Technique de conservation	Volume minimum du prélèvement (en mL)	Température de conser-vation (en °C)	Effectuer la mesure avant...
DCO	P ou V	Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	100	4	1 mois
	P	Congeler	100	- 20	1 mois
Dureté (TH)	P ou V	Acide nitrique q.s.p. pH < 2	100	–	1 mois
Fluorures, Bromures	P	0	300	4	1 mois
Iodures	V	0	500	4	48 h (obsc.)
Huiles et graisses	V	Acide chlorhydrique ou sulfurique q.s.p. pH < 2	1 000	4	1 mois
Hydrocarbures	V	Acide sulfurique q.s.p. pH < 2 (ne pas remplir complément le flacon)	1 000	4	1 mois
Hydrocarbures aromatiques polycycliques	V	Hexane (10 mL)	500	4	7 jours (obsc.)
Indice permanganate	V ou P	Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	500	4	2 jours
	P	Congeler	500	- 20	1 mois
Métaux: alcalins (Na, K) alcalino-terreux (Ca, Mg) lourds (sauf Hg) Ag, Al, Sb, As, Ba, Be, Cd, Cr total, Co, Cu, Fe total, Li, Mn, Ni, Pb Se, Sr, Ti, U, V, Zn	P	Acide nitrique q.s.p. pH < 2 (utiliser HCl si la technique par hydrures est mise en œuvre pour l'analyse)	100 à 500	–	1 mois
Fe^{II}	P	Acide chlorhydrique q.s.p. pH < 2	100	–	7 jours
Hg	Vb	Acide nitrique q.s.p. pH < 2 et ajout $K_2Cr_2O_7$ (225 mg/500 mL)	500	–	1 mois
Cr^{VI}	P	–	100	4 °C	24 h
Sn	P	Acide chlorhydrique q.s.p. pH < 2	100	–	1 mois
Nitrates	P ou V	O	250	4	24 h (obsc.)
		acide chlorhydrique q.s.p. pH < 2	250	4	7 jours
Nitrites	P ou V	0	200	4	24 h (obsc.)
Matières en suspension	P ou V	0	500	4	48 h (obsc.)
Odeur, Couleur, Saveur	P ou V	0	500	4	6 h (obsc.)
Oxydants résiduels (chlore, chloramines, brome, dioxyde de chlore)	P ou V	0	500	–	Effectuer l'analyse sur site immédiatement
Oxygène dissous	Vb	Mesure *in situ* de préférence	300	4	24 h (obsc.)
PCB	V	0	1 000	4	7 jours (obsc.)
pH	P ou V	Mesure *in situ* de préférence	100	4	6 h (obsc.)
Phénols (**)	Vb	Acide sulfurique q.s.p. pH < 4	1 000	4	3 semaines

Caractéristique ou élément analysé	Récipient	Technique de conservation	Volume minimum du prélèvement (en mL)	Température de conservation (en °C)	Effectuer la mesure avant...
Phénols (indice)	V	1 g/L de sulfate de cuivre + acide phosphorique q.s.p. pH < 4	500	4	7 jours
Phosphates (ortho, poly et P total)	P ou V	0	250	4	24 h (obsc.)
		Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	250	4	1 mois
Radioactivité	P	0	≥ 2000	4	1 mois (obsc.)
Résidus totaux, extraits sec	P ou V	0	200	4	24 h
S.E.C.	V	Chlorure mercurique (40 mg/L) ou chloroforme (1 mL/L)	Variable	4	48 h
Silicates	P	–	200	4	7 jours (obsc.)
Sulfates	P ou V	–	200	4	1 mois
Sulfites, sulfures	P	Prélèvement avec flacon spécial acétate de zinc (pH 12 + soude) (voir texte)	500	4	Plusieurs semaines
Agents de surfaces anioniques	V	Acide sulfurique q.s.p. pH < 2	500	4	48 h (obsc.)
TA-TAC (voir acidité – alcalinité)	P ou V	0	200	4	24 h (obsc.)
Turbidité	P ou V	0	100	4	24 h (obsc.)
Coliformes totaux	P ou V	Flacons stériles (*) (en présence d'une eau traitée par un oxydant, ajouter avant stérilisation 5 gouttes d'une solution de thiosulfate de sodium à 10 %	250	4	24 h (obsc.)
Coliformes fécaux	P ou V		250	4	24 h (obsc.)
Streptocoques fécaux	P ou V		250	4	24 h (obsc.)

P : Polyéthylène ; V : Verre ; Vb : verre borosilicaté ; obsc. : obscurité
(*) : Les flacons en verre peuvent être stérilisés au Four Pasteur à 180 °C pendant 1 h 30 ou à l'autoclave à 120 °C pendant 1 h. Les flacons en polyéthylène peuvent être stérilisés par irridation (25 KGy soit 2,5 Mrad).
(**) : en présence d'une eau chlorée ou traitée par un oxydant, ajouter du thiosulfate de sodium, $Na_2S_2O_3$, $5H_2O$ dans le flacon afin d'obtenir dans l'échantillon une concentration d'environ 80 mg pour 1 litre.

Méthodes de références

NF EN ISO 5667-3 (Juin 2004). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 3 : lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau (Indice de classement : T90-513).

FD T90-520 (Octobre 2005). Qualité de l'eau – Guide technique de prélèvement pour le suivi sanitaire des eaux an application du code de la santé publique (Indice de classement : T90-520).

NF EN ISO 5667-1 (Mars 2007). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 1 : lignes directrices pour la conception des programmes et des techniques d'échantillonnage (Indice de classement : T90-511-1)

FD T90-523-1 (Février 2008). Qualité de l'eau – Guide de prélèvement pour le suivi de qualité des eaux dans l'environnement - Partie 1 : prélèvement d'eau superficielle (Indice de classement : T90-523-1).

FD T90-523-3 (Janvier 2009). Qualité de l'eau – Guide de prélèvement pour le suivi de la qualité des eaux dans l'environnement – Partie 3 : prélèvement d'eau souterraine (Indice de classement : T90-523-3).

1.2 Principaux renseignements à fournir pour une analyse d'eau

1) Identité du préleveur.

2) Date et heure du prélèvement.

3) Particulier ou autorité demandant l'analyse.

4) Motif de la demande d'analyse (analyse initiale ou contrôle périodique, pollution, intoxication, épidémie, etc.) et usages de l'eau (boisson, lavage, abreuvage, incendie, industrie, etc.).

5) Ville ou établissement que l'eau alimente ; le cas échéant, le type de traitement utilisé.

6) Nom du point d'eau et localisation précise.

7) Origine de l'eau (source, puits, forage, rivière, lac, barrage, citerne, etc.). Aspect particulier (couleur, débris, irisation, odeur, etc.).

8) Température de l'eau à l'émergence et celle de l'atmosphère au moment du prélèvement. Conditions météorologiques du moment (précipitations, vent, pression atmosphérique, etc.).

9) Débit approximatif à la minute ou à la seconde. Dans le cas d'une nappe souterraine, préciser la profondeur et l'épaisseur de cette nappe, la durée du pompage et le débit, le nombre de renouvellements de l'eau d'un piezomètre avant prélèvement.

10) Nature géologique des terrains traversés, aspect du milieu naturel.

11) Causes de souillures permanentes ou accidentelles auxquelles l'eau paraît exposée (établissement agricole ou industriel, rejet de ville ou d'usine, puits perdu, cimetière, etc.).

12) Enregistrer les remarques des usagers ou riverains concernant les variations d'aspect ou de débit ainsi que les modifications provoquées par les pluies ou la fonte des neiges.

1.3 Principales analyses à effectuer sur site

De nombreuses réactions (chimiques, physiques ou biologiques) peuvent se produire au sein d'un échantillon destiné à l'analyse, modifiant sensiblement les concentrations de certains éléments. Les principaux facteurs de variation sont associés :

– aux variations de température et de pression, influençant en particulier la solubilité des gaz dissous dans l'eau,

– à la dissolution d'anhydride carbonique, qui pourra provoquer des modifications du pH et éventuellement de la conductivité,

– à des réactions de dégazage, affectant par exemple la teneur en oxygène dissous ou encore la concentration de composés hautement volatils (Hg, cyanures, solvants chlorés, trihalométhanes…),

– à des réactions d'oxydation par l'oxygène dissous (par l'oxygène de l'air ou par celui présent dans l'échantillon), réactions qui peuvent affecter aussi bien des composés minéraux (Fe^{II} par exemple) que des molécules organiques,

– à la dissolution d'oxygène, modifiant sa teneur dans le milieu avec éventuellement des incidences sur les perturbations par oxydation,

– à des réactions de précipitation, souvent influencées par des variations de pH, elles-mêmes généralement associées à des variations de la teneur en anhydride carbonique dissous.

Nombre de ces réactions étant excessivement rapides, des modifications significatives peuvent se produire en quelques minutes. Une analyse *in situ* ou sur site s'impose donc pour certaines analyses (voir tableau « Principales analyses à effectuer sur le site »), l'analyse sur site devant être effectuée dans les 5 minutes qui suivent le prélèvement. Pour d'autres éléments, ce sont les moyens de conservation des échantillons, mis en œuvre sur le site lors du prélèvement, qui garantiront une absence d'évolution des paramètres au cours du temps (cf. A-1.1).

Dans le cas des eaux destinées à la consommation humaine ayant subi un traitement de désinfection, il conviendra également d'effectuer le dosage des teneurs résiduelles en désinfectant immédiatement près le prélèvement, les réactions entre ces molécules oxydantes et les divers composés présents dans l'eau traitée (cellules bactériennes, mais aussi composés minéraux ou organiques) se poursuivant sur des durées très longues.

Principales analyses à effectuer sur le site

Paramètre	Analyse sur site indispensable	Analyse sur site souhaitable
pH	X	
Conductivité		X
Température	X	
Oxygène dissous	X	
Turbidité		X
Potentiel Redox	X	
Anhydride carbonique dissous		X

Paramètre	Analyse sur site indispensable	Analyse sur site souhaitable
Couleur	pour les eaux souterraines riches en Fe^{II}	
Odeur	analyse qualitative si nécessaire	
Teneurs résiduelles en oxydant : Cl_2 Br_2 Chloramines O_3 $ClO_2 + ClO_2^-$	X	

Méthode de référence

NF EN ISO 5667-3. Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau. Juin 2004.

1.4 Détermination des connexions hydrauliques et des propriétés des aquifères : utilisation de traceurs

Les techniques de traçage destinées à mettre en évidence les connexions hydrauliques entre deux milieux reposent sur un concept simple : il s'agit de marquer l'eau à l'aide d'un traceur artificiel et d'observer l'évolution de cette entité au sein de l'aquifère, ce qui permettra de suivre son déplacement et d'étudier les caractéristiques de cette migration. La réalisation d'un essai de traçage consiste donc à injecter un traceur en un point et à mesurer, au cours du temps, l'évolution de la concentration de ce traceur dans l'eau en un ou plusieurs points de prélèvement.

De nombreuses informations techniques figurant dans ce chapitre sont extraites d'un document de référence édité en 2002 par le Groupe de Traçage de la Société Suisse d'Hydrogéologie (SSH) sous le titre « Utilisation de traceurs artificiels en hydrogéologie ».

1.4.1 Objectif des essais de traçage

Si la détermination de l'existence d'une connexion hydraulique entre deux points a constitué il y a une cinquantaine d'années l'objectif majeur des essais de traçage, ce n'est plus le cas aujourd'hui où la caractérisation des propriétés de transport de l'aquifère et des propriétés intrinsèques de l'aquifère prennent une importance considérable.

La connaissance de la dynamique des masses d'eau présente en effet un intérêt majeur dans le domaine de l'hydrologie et de l'hydrogéologie (eaux souterraines et superficielles, gestion hydraulique de réseaux…). L'utilisation de traceurs artificiels pour marquer une eau constitue, dans ce domaine, un outil essentiel, qui permet d'apporter aux gestionnaires des informations nombreuses et variées pour la détermination des systèmes d'écoulement et la caractérisation des processus de mobilité des solutés, ainsi que pour la connaissance et la gestion hydraulique du milieu naturel et des aménagements.

Les questions majeures qui peuvent être résolues par l'usage de traceurs artificiels concernent par exemple :

– la connaissance des écoulements souterrains,

– la détermination de paramètres hydrauliques des écoulements (vitesse d'écoulement, coefficient de dispersion),

– la mise en évidence d'écoulements préférentiels,

– le cheminement et le contrôle des eaux d'infiltration,

– la détermination de l'origine des infiltrations,

– la délimitation des bassins d'alimentation pour la définition des périmètres de protection des captages,

– la délimitation des périmètres de protection des captages d'eau potable,

– la détermination de la vulnérabilité des captages d'eau potable,

– la recherche d'une connexion hydraulique entre une installation ou un cours d'eau et un captage,

– l'étude de structures aquifères en milieu fissuré,

– la détermination du temps de transfert d'un polluant (temps de séjour moyen, vitesse apparente de migration, taux de restitution), pour simuler une pollution accidentelle ou la propagation de polluants,

– la recherche de la provenance de pollutions,

– les contrôles d'étanchéité dans les réseaux,

– la recherche de fuites sur des barrages,

– la mesure des débits des cours d'eau,

– etc.

1.4.2 Précautions à prendre lors des essais de traçage

L'objectif du traçage conditionne en premier lieu les précautions et la rigueur à mettre en œuvre lors d'un essai. En effet, s'il s'agit uniquement de mettre en évidence l'existence éventuelle d'une connexion hydraulique entre deux milieux, le problème s'avère généralement simple à résoudre, mais la caractérisation des propriétés de transport d'un aquifère requiert plus d'informations car il est alors nécessaire de suivre l'évolution du traceur à la fois dans l'espace et dans le temps. Il faut dans ce cas choisir plusieurs points d'observation et mesurer, au cours du temps, l'évolution de la concentration en traceur en ces différents points.

Bien que largement utilisées, les techniques de traçage nécessitent des connaissances très spécifiques, en hydrogéologie et en géologie d'une part, et dans le domaine législatif et juridique d'autre part. Elles requièrent

également une bonne expérience pratique de la mise en œuvre des traceurs et de la conduite des essais. Elles se doivent donc de rester dans le domaine d'action d'utilisateurs expérimentés.

Obtenir des résultats satisfaisants à l'issue d'un essai de traçage nécessite en effet à l'expérimentateur d'avoir résolu de manière satisfaisante plusieurs problèmes spécifiques majeurs, que sont le choix du traceur adéquat, l'identification des points d'injection les plus pertinents, le choix des quantités à injecter et le choix des points et des stratégies d'échantillonnage. Paramètres stratégiques qu'il ne faut pas dissocier d'autres non moins importantes comme l'évaluation des temps de transits probables (qui conditionnent la durée d'expérimentation), les modes de dépouillement et d'interprétation des données analytiques ou encore les techniques analytiques à mettre en œuvre en fonction de la concentration du traceur, ainsi que les coûts afférents.

Le dispositif d'essai choisi *in fine* dépend d'une part de l'objectif visé, mais il doit intégrer une connaissance approfondie du terrain ainsi que des réflexions sur les connaissances géologiques et hydrogéologiques locales (milieux homogènes ou hétérogènes, présence de fracturations, porosité du milieu, nature et caractéristiques physicochimiques des matériaux…). Enfin, il devra se conformer aux procédures réglementaires (si elles existent) et gérer, si nécessaire, les procédures d'autorisation et d'information des organismes concernés et des usagers.

1.4.3 Critères de choix des traceurs

De nombreux traceurs sont couramment utilisés pour ces essais. Ils doivent présenter une bonne stabilité chimique et avoir un comportement qui se rapproche au mieux de celui de l'eau, de façon à représenter les mouvements de cette eau dans les sols saturés ou non saturés. Pour favoriser cette aptitude au transport, ils devront posséder une bonne solubilité et s'adsorber très faiblement à la surface des matériaux (faible coefficient de partage eau/matériau). Cette adsorbabilité dépend de la forme chimique du traceur et de la nature du matériau qui compose l'aquifère. Si elle est élevée, elle provoquera un retard dans la migration du traceur.

À ces considérations d'ordre géologiques et physicochimiques on se doit d'associer des données toxicologiques, qui étaient peu prises en compte il y a une vingtaine d'années et qui ont conduit à éliminer progressivement certains traceurs ou à réduire leur usage à des cas bien précis. En fait, la toxicité des traceurs pour l'homme et pour l'environnement est encore mal connue et on ne dispose que rarement de valeurs toxicologiques de référence pour les différentes molécules. Des évaluations réalisées aux États-Unis (par l'EPA, *Environmental Protection Agency*) ou encore en Allemagne (Agence fédérale pour l'environnement), montrent que les traceurs fluorescents actuellement en usage ne comportent pas de risques importants s'ils sont utilisés aux concentrations préconisées.

Au final, un bon traceur se caractérise par :

– une grande solubilité dans l'eau permettant au traceur de se disperser rapidement dans l'eau, même à basse température,

– un faible potentiel à s'adsorber et à subir un échange ionique sur le matériel de l'aquifère,

– une bonne stabilité chimique et biologique, garantissant une absence d'évolution en présence de lumière, de bactéries, d'une variation de pH ou de potentiel redox,

– une toxicité aussi faible que possible pour ne pas provoquer de risque toxique pour l'homme et avoir un impact environnemental négligeable,

– l'existence d'une méthode analytique fiable, précise (et si possible rapide et peu onéreuse), avec une très faible limite de quantification (pour suivre le traceur sur de longues distances et/ou avec des temps de séjour élevés) et présentant peu d'interférences,

– des coûts (produit et méthodes analytiques) compatibles avec les objectifs.

Mais il n'existe pas de solution unique aux problèmes de traçage et le choix d'un traceur est fortement conditionné par le contexte hydrogéologique et par l'objectif recherché.

Précisons également que certaines problématiques nécessitent la mise en œuvre d'un double ou d'un triple traçage (multitraçage).

1.4.4 Principaux traceurs utilisés

Ils sont généralement classés en 3 catégories :

– les traceurs solubles dans l'eau, parmi lesquels se trouvent :
  - des sels minéraux,
  - des colorants et principalement des molécules à propriétés fluorescentes,

– les particules insolubles,

– les traceurs radioactifs.

■ Sels minéraux

Les sels minéraux font partie des traceurs les plus anciens. Dans ce cas, c'est le plus souvent l'anion qui est mesuré, car le cation fait l'objet d'échange ionique avec les matériaux des sols. Au nombre de ces traceurs se trouvent actuellement :

– les ions chlorure (chlorure de sodium NaCl), qui sont mis en œuvre dans les milieux poreux très perméables et pour de courtes distances,

– les ions bromure (bromure de potassium KBr ou d'ammonium NH_4Br),

– les ions iodure (iodure de potassium KI), utilisés dans les eaux souterraines pour des temps de transit réduits,

– les sels de lithium (tels que le chlorure de lithium LiCl), le lithium étant un cation peu soumis aux échanges cationiques, et aisément analysable même à l'état de trace.

Mais dans la pratique, certains de ces sels ne sont plus utilisés que de manière occasionnelle. C'est le cas du chlorure de sodium, qui présente l'inconvénient d'une limite de détection moins bonne que certains traceurs fluorescents, avec des bruits de fond notables, associés aux teneurs préexistantes dans les eaux, ainsi qu'à des origines géologiques ou humaines.

Quelques sels, utilisés par le passé, ont fait l'objet d'interdiction d'usage en raison de leur caractère toxique. C'est le cas en particulier du dichromate

de potassium, qui fut utilisé pour la mesure des débits des cours d'eau. D'autres comme les ions nitrite (sous forme de nitrite de sodium $NaNO_2$) ont été abandonnés car relativement peu stables dans les eaux naturelles et parce qu'ils participaient à l'augmentation des teneurs en azote dans les eaux naturelles. De même, les ions bromure voient leur usage se réduire, voire être totalement proscrit pour certains usages, car ils sont responsables de la formation de composés organobromés lors de la désinfection des eaux potables par le chlore et l'ozone.

Plus récemment, l'emploi du borax ($Na_2B_4O_7$, 10 H_2O) en tant que traceur est signalé pour certaines applications, sans que les retours d'expériences soient encore suffisants.

D'un coût analytique souvent plus élevé que les traceurs fluorescents, les sels possèdent en outre une limite de détection moins bonne que les traceurs fluorescents, ainsi qu'un bruit de fond élevé lié à des origines géologiques ou humaines. Ils seront le plus souvent dédiés à des essais multitraçages, en complément des traceurs radioactifs.

■ Traceurs fluorescents

Les traceurs fluorescents constituent de loin le groupe le plus important et ils concernent aujourd'hui plus de 95 % des essais. De manipulation simple et souvent faciles à détecter à des concentrations très faibles, ils peuvent, selon les molécules trouver leur application dans différents milieux hydrogéologiques (milieu karstique, poreux ou fissuré). Cependant, certaines molécules peuvent faire l'objet d'une interdiction d'usage dans certains pays européens en raison de leur toxicité présumée. C'est le cas de la rhodamine B, interdite en Suisse, mais pour laquelle les règles d'usage sont encore assez floues en France, même si de nombreuses instances la proscrivent pour tous les usages.

Les caractéristiques des principaux traceurs fluorescents connus, présentés dans le tableau ci-dessous (par ordre alphabétique), soulignent les possibilités et les limites de chaque molécule. Malheureusement, ces molécules existent sous différents noms commerciaux et plusieurs molécules différentes peuvent avoir la même appellation commerciale. Pour éviter les erreurs il est préférable de se référer au Colour Index (CI) de chaque molécule et de les identifier par leur dénomination la plus classiquement reconnue.

Dans cette liste, trois molécules se distinguent par leurs aptitudes élevées en tant que traceur et elles sont actuellement les plus utilisées : ce sont l'uranine (plus connue sous le nom de fluorescéine), l'éosine et la sulforhodamine G.

L'uranine (fluorescéine) représente en effet le traceur considéré comme le plus adéquat en hydrologie, en raison de son innocuité pour l'homme et l'environnement, de sa grande sensibilité de détection (de l'ordre de 1 ng/L), de sa faible tendance à l'adsorption et de sa stabilité. Associées à un coût assez modique, ces propriétés en font le traceur le plus utilisé. Comme de nombreux autres traceurs fluorescents, l'uranine est sensible à la lumière et une autre limitation concerne les eaux acides (pH < 5,5). À ces pH, en effet, la molécule devient d'une part plus adsorbable, donc moins bien restituée, et d'autre part moins fluorescente, donc difficilement détectable par fluorimétrie.

Caractéristiques des principaux traceurs fluorescents

Dénomination (autres appellations usuelles) Colour Index CI	Toxicité*	Aptitude à l'adsorption	Détection fluorimétrique		Limite de détection	Remarques particulières
			Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)		
Eosine (Eosin Y ou Acid Red 316) CI 45380	Non toxique	moyenne	512	537	très bonne	Sensible à la lumière
Naphthionate (Naphthionate de sodium ou Acide naphthionique	Non toxique	faible	323	418	moyenne	Bruit de fond élevé
Pyranine CI 59040	Non toxique	faible	460	512	moyenne	Faible taux de restitution sans doute lié à une dégradation
Rhodamine B CI 45170	Toxique	très élevée	551	576	très bonne	Usage à déconseiller
Rhodamine WT (Acid Red 388) CI	Toxique	élevée	558	583	bonne	À n'utiliser qu'à titre exceptionnel
Sulforhodamine B (Acid Red 52) CI 45100	Toxique	élevée	561	586	bonne	Limiter son usage
Sulforhodamine G (Amido-rhodamine G ou Acid Red 50) CI 45220	Non toxique	moyenne	529	548	très bonne	
Tinopal CI non disponible	Non toxique	élevée	346	435	moyenne	Bruit de fond élevé
Uranine (Fluorescéine ou fluorescéine disodique) CI 45350	Non toxique	faible	490	515	très bonne	- Considéré comme le meilleur traceur - Non utilisable à pH < 5,5

** toxicité présumée (données toxicologiques encore fragmentaires et parfois contradictoires).*

L'éosine présente également un bon potentiel, malgré une tendance à l'adsorption un peu plus élevée. Peu sensible aux variations de pH (dans une gamme de 2 à 12), il est par contre très sensible à la lumière, ce qui empêche son utilisation pour les eaux de surface. Une utilisation simultanée d'éosine et d'uranine peut conduire à des interférences analytiques en fluorimétrie.

La sulforhodamine G est sujette à l'adsorption, comme pratiquement tous les traceurs du groupe des rhodamines. Mais son innocuité pour l'homme en fait un traceur de choix pour les eaux souterraines, alors que son usage pour les eaux de surface est limité par sa toxicité sur les plantes.

Certaines autres molécules du tableau peuvent encore être employées, en privilégiant les moins toxiques d'entre elles. Ainsi le naphtionate sera utilisé, mais uniquement pour des traçages sur de courtes distances car sa faible limite de détection nécessite l'injection de quantités 10 à 20 fois plus importantes que les traceurs précédents. Il semble également être l'objet de phénomènes d'adsorption irréversible ou subir des réactions de dégradation. Son intérêt majeur est son absence de coloration même à concentration élevée, ce qui autorise son emploi pour les eaux destinées à la consommation humaine.

Toutes ces molécules fluorescentes sont détectables à l'aide d'un fluorimètre : la molécule excitée à une longueur d'onde convenable ($\lambda_{excitation}$) émet une radiation lumineuse à une longueur d'onde plus élevée ($\lambda_{émission}$), dont l'intensité est proportionnelle à la concentration.

En général, ces molécules organiques possèdent un caractère amphiphile (avec des propriétés à la fois hydrophiles et hydrophobes). De plus les groupements fonctionnels sont susceptibles de se protoner et de se déprotoner en fonction du pH. Il s'ensuit des interactions complexes avec le matériel de l'aquifère, faisant intervenir l'hydrophobicité, les forces de Van der Waals, les aptitudes à l'échange ionique, des liaisons covalentes ou hydrogène, la complexation avec les métaux…

■ Les traceurs radioactifs

Les radioisotopes peuvent être utilisés comme traceurs dans la recherche hydrogéologique, où leur avantage majeur est la possibilité d'employer des concentrations extrêmement faibles. Mais les possibilités étendues qu'ils offrent ne doivent pas faire oublier que leur emploi présente des difficultés certaines. En France, leur utilisation est contrôlée par des organismes officiels et en particulier, elle est soumise à une autorisation auprès de l'Autorité de Sûreté Nucléaire qui doit statuer sur l'opportunité de leur utilisation. La manipulation des radioéléments demande en outre de résoudre des problèmes de radioprotection non négligeables et de faire appel pour les analyses à des organismes accrédités.

La tendance actuelle est donc d'éviter d'utiliser des traceurs radioactifs, même si leur emploi n'est pas interdit.

Parmi ces radioéléments se trouvent des émetteurs γ (^{24}Na, ^{51}Cr, ^{58}Co, ^{82}Br, ^{103}Ru, ^{131}I, ^{198}Au…), des émetteurs β (^{89}Sr, ^{3}H, ^{35}S…), alors que les émetteurs α sont proscrits en raison de leur radiotoxicité. D'autres méthodes enfin font appel à des traceurs préexistants dans le milieu tels que radon, radium, uranium, thorium, tritium ou encore carbone 14.

Les particules

En région karstique, l'utilisation de traceurs sous forme de particules solides ou colloïdales a fait l'objet d'essais depuis de nombreuses années. En raison de leur taille élevée, certaines particules ne pourront pas pénétrer dans les pores de petite taille du matériau des aquifères et elles seront de ce fait transportées plus rapidement que les substances dissoutes. Leur aptitude au transport dans les milieux poreux est similaire à celui des micro-organismes et dépend de leur taille, mais aussi de leurs propriétés de surface (structure et charge électrique). Cette spécificité leur permet en particulier de simuler le transport des micro-organismes, bien mieux que ne le font les traceurs solubles.

Les bactériophages (ou phages), sont des virus qui ne s'attaquent qu'aux bactéries, et comme tous les virus, ils sont incapables de se reproduire par eux-mêmes. Un traitement avant injection prévient tout risque de reproduction ou de dissémination dans l'aquifère. Leur taille se situe entre 0,01 et 0,5 μm. Ils présentent une bonne stabilité, en survivant dans les aquifères pendant quelques semaines. Leur utilisation conduit généralement à des taux de restitution bien meilleurs en milieu karstique qu'en milieu poreux. L'utilisation de bactériophages doit donc être réservée aux aquifères très perméables (10^{-2} à 10^{-3} m/s) et à de faibles distances. Par contre, ils sont très fortement retenus dans la zone non saturée du sol et dans les sédiments peu perméables.

Chaque type de phage a comme hôte une espèce spécifique de bactérie et c'est sur cette affinité pour une bactérie particulière que repose la technique analytique. En laboratoire, il est possible de différencier plusieurs phages, ce qui autorise le recours aux multitraçages.

Plus récemment, des microsphères fluorescentes ont été utilisées comme traceur en hydrologie et on ne dispose à ce jour que de retours d'expériences insuffisants. Leur aptitude au transport semble équivalente à celle des bactériophages. Sphères microscopiques et disponibles dans différents diamètres (généralement de l'ordre de 1 μm), ces particules sont le plus souvent composées d'une structure en polystyrène, dont la surface est revêtue d'un film de matière fluorescent, ce qui permet leur comptage par microscope à fluorescence. Cette technique analytique exclut l'usage de ces microsphères pour des essais de routine.

L'emploi de spores tel que *Lycopodium clavatum* (d'un diamètre d'environ 30 μm et d'une densité légèrement supérieure à celle de l'eau) ou d'ADN de synthèse pour des traçages est signalé par certains auteurs. Pour les spores, leur taille élevée limite leur utilisation aux traçages dans des systèmes karstiques. Quant à l'ADN, le codage de la chaîne ADN permettrait de disposer d'une infinité de traceur, mais l'inconvénient majeur réside dans sa taille (diamètre de l'ordre de 20.10^{-4} μm très inférieur à la longueur qui pour l'ADN synthétique est de l'ordre de quelques μm).

Autres traceurs

Des composés organiques de type benzoates et fluorobenzoates sont également cités en tant que traceurs. Il a été montré qu'ils sont très mobiles si le pH de la solution saturée du sol est supérieure d'au moins 2 unités à celle de pKa du traceur concerné. Mais des phénomènes de sorption peu-

vent se produire en présence de grandes quantités d'argiles, de matières organiques ou d'oxydes de fer. Concernant la toxicité pour les organismes aquatiques, elle semble faible, mais elle augmente avec le taux de fluoration des fluorobenzoates. Bien que de nombreux composés de cette classe aient été utilisés depuis 1980, le seul composé encore cité à ce jour est le m-TFMBA (acide méta-trifluorométhylbenzoïque), avec un usage limité à des applications dans des forages profonds.

Dans le domaine des eaux usées, on recommande généralement l'usage du colorant bleu de méthylène, très soluble et à la coloration très intense.

1.4.5 Techniques d'analyse des traceurs

Les techniques de traçage ont largement bénéficié du développement des méthodes instrumentales d'analyse. Les mesures sont progressivement devenues plus rapides, plus simples et plus sensibles. L'abaissement des limites de quantification permet actuellement de réduire significativement les quantités de traceurs utilisées.

Les méthodes varient selon les traceurs et si les analyses de laboratoire prédominent, des analyseurs de terrain sont parfois disponibles, autorisant dans certains cas un suivi en continu du traceur (cf. tableau ci-dessous).

Type de traceur	Technique analytique	
	En laboratoire	**Sur le terrain**
Sels minéraux (anions ou cations)	– Inductively coupled plasma (ICP) – Spectrométrie d'absorption atomique – Photométrie de flamme (pour Li) – Chromatographie ionique *Voir méthodes détaillées au §-A.7.*	Pas de matériel adapté
Molécules fluorescentes	– Spectrofluorimètre – Chromatographie liquide haute performance avec détecteur fluorimétrique	Fluorimètre de terrain (mesures en continu possibles)
Particules Bactériophages Microsphères fluorescentes	Culture et dénombrement sur milieu nutritif adapté Comptage avec microscope à fluorescence	Pas de matériel adapté
Traceurs radioactifs	– Compteurs proportionnels avec détecteurs pour comptage alpha et bêta – Appareil de scintillation liquide – Spectromètre gamma – Spectromètre X	Mesure rarement possible sur site, même s'il existe des spectromètres gamma portables

Pour l'ensemble des méthodes présentées pour les sels et les molécules fluorescentes, le suivi analytique nécessite la réalisation préalable d'une courbe d'étalonnage donnant la réponse de l'appareil en fonction de la concentration en traceur.

Dans le cas des traceurs fluorescents, l'existence d'appareillages de terrain constitue un avantage certain en fournissant immédiatement les données obtenues, mais avec des limites de détection moins bonnes que les appareillages de laboratoire et la possibilité d'interférences. Mais ils permettent des mesures de fluorescence en continu et *in situ*, aussi bien dans les eaux de surface que dans les forages. En général on utilisera ces appareillages de terrain en complément des analyses de laboratoire.

1.4.6 Interprétation des essais de traçage

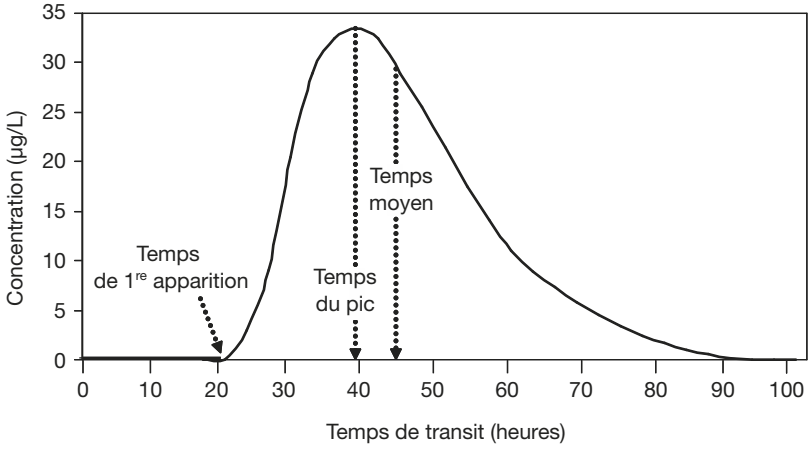
Un des objectifs majeurs des essais de traçage consiste à déterminer le temps de séjour (ou temps de transit de l'eau à travers un milieu donné et donc de déterminer sa vitesse d'écoulement.

Dès que le traceur est injecté au point d'injection choisi, on procède donc au cours du temps à des prélèvements aux différents points d'échantillonnage choisis. Pour chaque point d'échantillonnage l'analyse permet l'obtention de différents paramètres. Le premier concerne la courbe dite courbe de restitution du traceur (voir figure ci-dessous), qui représente la concentration en traceur en fonction du temps passé après l'injection.

– le temps de transit minimum ou temps de 1re apparition du traceur,

– le temps de transit du pic t_{pic}, qui correspond au temps pour lequel la concentration en traceur détectée est maximale,

– la valeur médiane (t_{moyen}), qui correspond à la restitution de 50 % de la quantité de traceur détectée au point d'échantillonnage.



Exemple de courbe de restitution d'un traceur en un point d'échantillonnage

Dans le cas d'un multitraçage, on représentera au cours du temps la concentration de chacun des traceurs, qui met en évidence les caractéristiques de transport, avec des dispersions plus ou moins importantes selon le traceur.

En intégrant les quantités de traceur figurant sur cette courbe de restitution, il est possible de tracer une courbe de restitution cumulée (quantité restituée en fonction du temps), qui indique la quantité de traceur ayant transité en un point donné au cours du temps.

Le taux de restitution se calcule quant à lui par le rapport de la quantité de traceur restitué au point d'observation sur la quantité totale injectée. Un taux de restitution nul ne signifie pas obligatoirement une absence de connexion hydraulique entre les points d'injection et le point d'échantillonnage. Il peut provenir d'une période d'observation trop courte, d'une trop faible quantité de traceur, d'un traceur qui s'adsorbe irréversiblement dans les conditions de l'aquifère (pH, porosité, teneur en matière organique…), ou encore d'une dispersion du traceur dans une zone inaccessible au point d'échantillonnage choisi.

Mais les essais de traçage sont aussi employés pour déterminer la distribution spatiale d'une dispersion, par exemple lors de la simulation d'un évènement polluant. Dans ce cas, des systèmes de traitement des données plus élaborés seront mis en œuvre pour exploiter les résultats obtenus aux différents points d'échantillonnage

Remarques

– Avant tout essai de traçage, il est important de se renseigner sur les éventuels essais déjà effectués antérieurement sur le même site, certains traceurs pouvant conduire à la présence de résidus stables sur une longue période,

– en zone non saturée, les essais de traçage sont beaucoup plus difficiles à maîtriser qu'en zone saturée, et peuvent conduire à des résultats négatifs, car ils sont dépendants des précipitations naturelles et une forte adsorption du traceur dans les sols non saturés peut conduire à de grandes pertes. Outre le choix du traceur, un rinçage abondant du point d'injection avant et après l'ajout du traceur s'avère indispensable,

– les traceurs sont sensiblement les mêmes pour les eaux souterraines et les eaux superficielles. Il faut cependant prendre en compte de possibles phénomènes de dégradation en eaux superficielles (photodégradation en particulier),

– pour des traçages dans les eaux usées, on évitera l'emploi de traceurs fluorescents qui contribuent à l'accumulation d'une contamination de base en traceur, ce qui pourra être préjudiciable pour des traçages ultérieurs dans les eaux superficielles ou souterraines,

– dans les eaux usées, on recommande l'utilisation du bleu de méthylène, très soluble dans l'eau et au fort pouvoir colorant.

1.5 Mesure des débits

1.5.1 Mesure des hauteurs d'eau

La mesure des hauteurs d'eau (limnimétrie) ou de la variation d'un plan d'eau s'effectue généralement de manière discontinue par la lecture d'une règle graduée (échelle limnimétrique) fixée sur un support. Pour connaître en continu les variations d'un plan d'eau, on utilise des limnigraphes qui

fournissent un enregistrement continu des variations du niveau d'eau dans la rivière en fonction du temps.

Le limnimètre

Le limnimètre est l'élément de base des dispositifs de lecture et d'enregistrement du niveau de l'eau : il est constitué par une **échelle limnimétrique** (règle ou une tige graduée), placée verticalement ou inclinée, permettant la lecture directe de la hauteur d'eau à la station. Si l'échelle est inclinée, la graduation est corrigée en fonction de l'angle d'inclinaison avec la verticale. La lecture de l'échelle limnimétrique se fait généralement au demi-centimètre près. Le zéro de l'échelle doit être placé au-dessous des plus basses eaux possibles dans les conditions de creusement maximum du lit dans la section de contrôle, afin de ne pas avoir de cotes négatives.

Le limnigraphe à flotteur

Le limnigraphe à flotteur est un appareil qui maintient un flotteur à la surface de l'eau grâce à un contrepoids, par l'intermédiaire d'un câble et d'une poulie. Le flotteur suit les fluctuations du niveau d'eau, qui sont reportées sur un graphe solidaire d'un tambour rotatif (allant d'un tour par 24 h à un tour par mois). La précision de la mesure est de 5 mm environ.

Le limnigraphe « bulle à bulle »

Le limnigraphe à pression ou « bulle à bulle », mesure les variations de pression liées aux changements de niveau d'eau. Cet appareil comprend une bouteille de gaz comprimé, un dispositif de contrôle de pression et un tube immergé relié à la bouteille. Un débit d'air constant sous pression est envoyé au fond de la rivière. Un manomètre mesure la pression de l'air dans le tube qui est proportionnelle à la hauteur d'eau au-dessus de la prise installée dans la rivière.

Autres capteurs pour la mesure des hauteurs d'eau

Les sondes destinées à remplacer les échelles limnimétriques et autres limnigraphes, permettent l'automatisation du réseau de mesures des hauteurs d'eau. La plupart de ces capteurs mesurent des paramètres électriques qui varient en fonction d'une pression exercée sur le système. Citons notamment le capteur capacitif et le capteur à ultrasons. Le capteur capacitif repose sur le principe du condensateur. Une variation de la distance entre les deux plaques du condensateur induit une variation de tension mesurable. L'appareil, constitué d'une plaque fixe et d'une plaque mobile selon la pression, peut ainsi mesurer des différences de hauteur d'eau quand il est immergé dans le cours d'eau. La pression de l'eau est transmise par l'intermédiaire d'une membrane solidaire de la partie mobile du condensateur.

1.5.2 Mesure des débits

Il existe un grand nombre de méthodes de mesures des débits, dont la mise en œuvre variera selon les situations (petit ou très fort débit ; écoulement en régime fluvial ou torrentiel pour un cours d'eau…).

Cinq méthodes peuvent être citées :

– 1. Les méthodes volumétriques, (jaugeage capacitif), qui consistent à mesurer le temps nécessaire pour remplir d'eau un récipient d'une contenance connue. Ces méthodes sont en général pratiquées pour de faibles débits (en laboratoire, sur des sources, sur des rejets limités dans le temps).

– 2. Les méthodes par exploration du champ de vitesse dans une section droite d'écoulement : la vitesse de l'écoulement est déterminée en différents points de la section. Ces méthodes nécessitent du matériel spécifique (moulinet, perche, saumon, courantomètres…) et un personnel formé.

– 3. Les méthodes hydrauliques, qui utilisent les principes qui régissent les écoulements, et qui englobent les mesures avec mise en place de déversoir.

– 4. Les méthodes physico-chimiques, dites « chimiques » ou « par dilution », qui consistent à injecter un composé en solution dans l'eau, de concentration connue, et à mesurer l'évolution de sa concentration au cours du temps à une certaine distance en aval du point d'injection en s'assurant que le mélange est satisfaisant. Ces méthodes sont appropriées pour des régimes torrentiels.

– 5. La méthode à effet Doppler, dite ADCP (pour Acoustic Doppler Current Profiler), qui repose sur une technologie utilisant la propagation d'ondes acoustiques de haute fréquence.

Jaugeage capacitif

La méthode la plus précise sur les faibles débits est la mesure dite « à capacité ». Nécessitant un récipient et un chronomètre, elle s'applique à un flux faible et canalisé. La méthode consiste à mesurer le temps que met le récipient, de volume connu, à se remplir d'eau.

La formule Qc = V/T (où V est le volume du seau en litres et T le temps en secondes pour le remplir) donne le débit (en l/s). L'erreur de mesure est faible avec ce système et peut être estimée en fonction de l'imprécision sur le temps de remplissage et le volume du seau.

Jaugeage par exploration du champ de vitesses

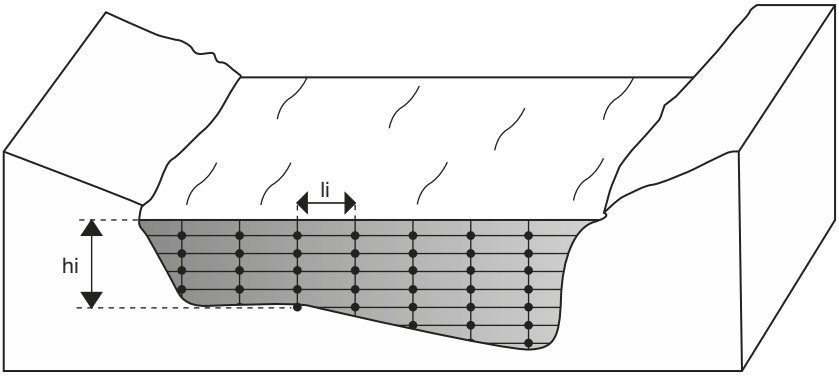
La vitesse d'écoulement n'étant pas uniforme dans la section transversale d'un cours d'eau, la méthode consiste à calculer le débit à partir du champ de vitesse déterminé dans une section transversale : on choisit un nombre de points le long de verticales réparties judicieusement sur la largeur du cours d'eau. Parallèlement, on relève le profil en travers du cours d'eau en mesurant sa largeur et en effectuant des mesures de profondeur, ce qui permet d'obtenir la section mouillée correspondante.

Le débit Q (m^3/s) s'écoulant dans une section d'écoulement S (m^2) d'une rivière est défini à partir de la vitesse moyenne v (m/s) perpendiculaire à cette section par la relation :

$$Q = S.\ v$$

$$Q = q_1 + q_2 + \ldots\ldots + q_n$$

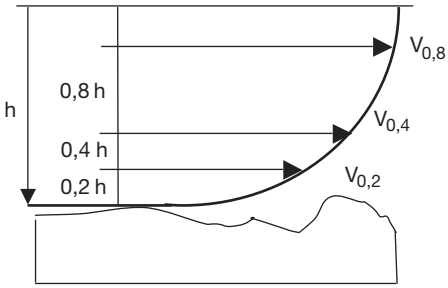
Avec n = nombre de verticales et $q_i = v_{mi.}\ h\ \frac{(l_{i-1} + l_i)}{2}$



Mesures de débit sur une section transversale

Au niveau de chaque verticale, pour un nombre de points de mesure inférieur ou égal à 3, la vitesse moyenne est sensiblement égale à :

$V_m \approx V_{0,4}$
ou $V_m \approx ½ (V_{0,2} + V_{0,8})$
ou $V_m = ½ V_{0,4} + ¼ (V_{0,2} + V_{0,8})$.



Jaugeage au moulinet

La méthode au moulinet est une technique éprouvée, largement utilisée pour la mesure des débits en rivière.

Le moulinet hydrométrique permet de mesurer la vitesse ponctuelle de l'écoulement. Le nombre de mesures sur une verticale est choisi de façon à obtenir une bonne description de la répartition des vitesses sur cette verticale. De manière générale, on fera entre 1 et 3 mesures, parfois 5, suivant la profondeur du lit.

La vitesse d'écoulement est mesurée en chacun des points à partir de la vitesse de rotation de l'hélice située à l'avant du moulinet (nombre de tours n par unité de temps). La fonction v = f (n) est établie par étalonnage (courbe de tarage du moulinet). Suivant le mode opératoire adopté pour le jaugeage, le moulinet peut être monté sur une perche rigide ou sur un lest profilé appelé « saumon ». Bien veiller à l'immersion complète de l'appareil.

Les moulinets à hélice ne permettent pas de mesurer de très faibles vitesses (la vitesse de démarrage est d'environ 5 cm/s et l'incertitude peut être importante jusqu'à 10 cm/s). L'opérateur devra utiliser l'hélice la mieux adaptée.

Lorsque le moulinet est fixé sur une perche, l'opérateur placé dans l'écoulement (jaugeage à gué) doit se trouver à l'aval de l'appareil de mesure et

ne pas provoquer des perturbations de l'écoulement, ce qui est réalisable avec des vitesses d'écoulement inférieures à 1 m/s.

Si la mesure est effectuée à partir d'une passerelle, la perche est suspendue à un support permettant des déplacements verticaux.

Lorsque les profondeurs et les vitesses sont supérieures, le moulinet est monté sur un lest profilé (saumon), retenu par un câble relié à un treuil dans les limites suivantes :

Mode opératoire	Limites de la méthode
Mesures à partir d'un pont ou mesures à l'aide d'un canot	Profondeur < 10 m et vitesse < 2 m/s
Mesures à partir de stations téléphériques	Vitesse < 3 m/s
Mesures à partir d'un bateau mobile	Lorsque la rivière est large (> 200 m), uniforme et sans présence de hauts-fonds

Jaugeage au flotteur

Le jaugeage au flotteur permet d'estimer le débit quand on ne dispose pas d'un appareil de mesure ou quand les conditions de vitesses et de profondeurs ne sont pas adaptées pour un jaugeage au moulinet.

Cette méthode ne prend en compte que les vitesses dans la tranche superficielle de l'écoulement, soit environ les 20 premiers centimètres.

Les flotteurs peuvent être artificiels (bouteilles en plastique) ou naturels (arbres, grosses branches, etc.). Le déplacement horizontal d'un flotteur durant un temps t permet de déterminer la vitesse de l'écoulement de surface. Plusieurs mesures de vitesse du flotteur doivent être réalisées. La moyenne de ces mesures est ensuite multipliée par un coefficient approprié pour obtenir la vitesse moyenne de l'élément de section. En général, la vitesse moyenne dans la section est de l'ordre de 0,4 à 0,9 fois la vitesse de surface (0,5 à 0,8 fois pour des petits cours d'eau de plaine).

L'estimation du débit est obtenue par calcul : $Q = 2/3\ v_{max} \times L \times P_m$

Avec v_{max} = vitesse maximale de surface

L = largeur utile (coulante)

P_m = profondeur moyenne.

■ Détermination du débit à l'aide d'ouvrages calibrés

La construction d'un déversoir ou d'un canal calibré pour déterminer le débit d'un écoulement est très fréquente, notamment sur les rejets d'effluents, mais elle est également réalisable sur de petits cours d'eau aux lits étroits, encombrés de blocs, à faible tirant d'eau, sur lesquels l'installation de stations à échelles limnimétriques et l'exécution de jaugeages au moulinet ne sont pas recommandées.

Le débit d'un déversoir est donné par la formule générale :

$$Q = \mu L_S\, h\sqrt{2gh}$$

Où :

Q = débit, en m^3/s (ou L/s)

μ = coefficient de débit du déversoir,

L_s = largeur du seuil déversant, en m,

h = hauteur de lame, en m (ou cm),

g = accélération de la pesanteur, en m/s^2 (= 9,81 à Paris).

On désigne par ailleurs par P, la « pelle » ou hauteur du seuil au-dessus du fond amont, et par L la largeur du canal à l'amont du déversoir.

Selon la géométrie du déversoir, la relation mathématique entre la hauteur mesurée et le débit, varie. Divers types de déversoir sont d'usage courant, tels que :

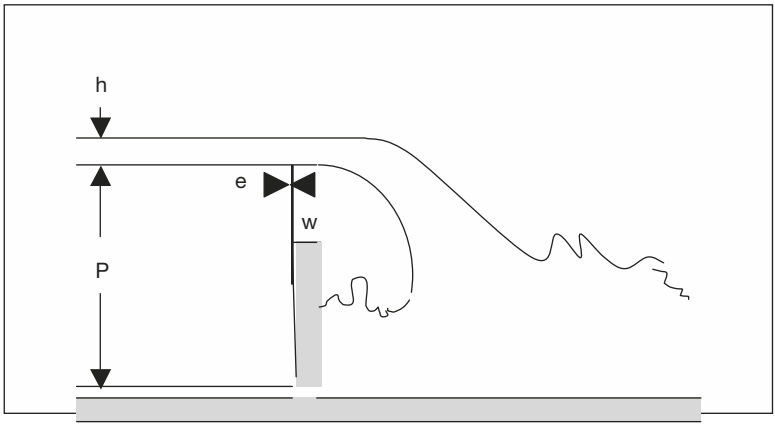
– le déversoir rectangulaire,
– le déversoir triangulaire,
– le déversoir à contraction latérale.

Déversoir rectangulaire en mince paroi sur un canal

DÉVERSOIR SANS CONTRACTION LATÉRALE (L_S = L), AVEC ÉCOULEMENT À NAPPE LIBRE

Un déversoir est ainsi défini quand l'épaisseur e du seuil est inférieure à la moitié de la charge h, quand l'écoulement est tel qu'il laisse un espace rempli d'air à pression atmosphérique entre la lame et la paroi aval du seuil, et quand la largeur de la lame déversante est identique à celle du canal.

Le coefficient de débit μ est donné par la formule de Bazin (1898), d'un emploi général en France.



$$\mu = \left[0{,}405 + \frac{0{,}003}{h}\right]\left[1 + 0{,}55\,\frac{h^2}{(h+P)^2}\right]$$

La formule est utilisable pour des hauteurs de lame h comprises entre 0,10 m et 0,60 m et P compris entre 0,2 et 2 m.

La mesure de h se fait à une distance du seuil au moins égale à cinq fois la hauteur maximale de lame. Si l'aération sous la nappe est insuffisante

(nappe déprimée), le débit est accru et la loi mal définie, ce qui n'est pas acceptable pour un déversoir de mesure.

Déversoir avec contraction latérale

la SIA (Société des Ingénieurs et Architectes Suisses) a proposé pour μ la formule suivante :

$$\mu = \left(0{,}385 + 0{,}025\left(\frac{l}{L}\right)^2 + \frac{2{,}410 - 2\left(\frac{l}{L}\right)^2}{1000h + 1{,}6}\right) \times \left(1 + 0{,}5\left(\frac{l}{L}\right)^4\left(\frac{h}{h+P}\right)^2\right)$$

lorsque :

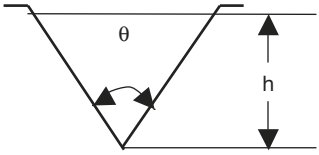
$$P \geq 0{,}30 \text{ m} ; l > 0{,}31 \text{ L} ; 0{,}025\frac{L}{l} \leq h \leq 0{,}80 \text{ m} ; h \leq P.$$

À signaler la formule simplifiée de Francis :

$$Q = 1{,}83\ (1 - 0{,}2\ h)\ h^{3/2}$$

pour laquelle la surlargeur de part et d'autre du seuil doit être au moins égale à 3 h, la hauteur de lame étant mesurée à 2 m au moins vers l'amont.

Déversoir triangulaire en mince paroi



$$Q = \frac{4}{5}\mu h^2 h\sqrt{2gh}\ tg\frac{\theta}{2}$$

Où :

Q = débit, en m^3/s,

μ = coefficient de débit du déversoir rectangulaire de Bazin en mince paroi sans contraction latérale,

h = hauteur de lame, en m,

θ = angle au sommet du déversoir.

Le débit d'un déversoir triangulaire peut se déduire du débit du déversoir rectangulaire sans contraction latérale, à hauteur de lame et pelle identique, en multipliant ce débit par :

$$\frac{4}{5}\ h\ tg\ \frac{\theta}{2}$$

■ Jaugeage par dilution

Les jaugeages par dilution s'appliquent à des torrents ou des rivières en forte pente où l'écoulement est turbulent ou pour lesquels les jaugeages au moulinet ne sont pas réalisables.

Le principe consiste à injecter dans la rivière une solution concentrée

d'un traceur (sel, colorant…) et à rechercher dans quelle proportion cette solution a été diluée par la rivière, par prélèvements d'échantillons d'eau à l'aval du point d'injection. Cette dilution est notamment fonction du débit, supposé constant le long du tronçon concerné pendant la durée de la mesure. La formule de calcul est la suivante :

$$Q = k \times \left(\frac{C_1}{C_2}\right)$$

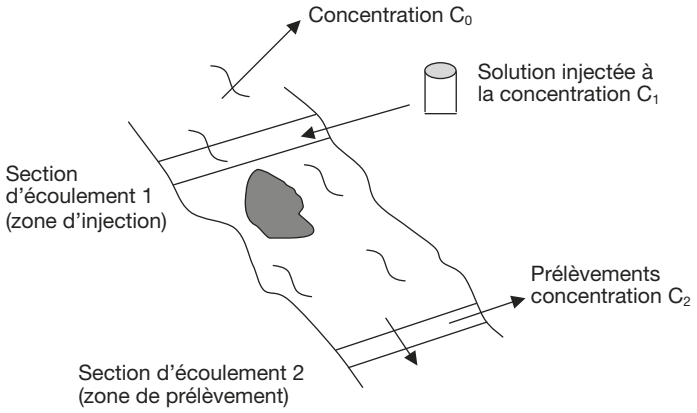
Où :

Q : débit du cours d'eau (l/s),

C_1 : concentration dans la solution injectée dans le cours d'eau (g/l),

C_2 : concentration dans les échantillons prélevés à l'aval du point d'injection dans le cours d'eau [g/l],

k : coefficient caractéristique du procédé et du matériel utilisé.



Les conditions suivantes sont nécessaires pour que les méthodes par intégration ou dilution puissent être appliquées :

– le débit de la rivière doit rester à peu près constant pendant la mesure,

– le traceur doit passer en totalité par la zone de prélèvement des échantillons,

– à la hauteur des prélèvements, le mélange doit être tel qu'en chaque point de la section du cours d'eau, doit passer la même quantité de traceur.

Différents traceurs minéraux ou organiques sont utilisés (fluorescéine, rhodamine) permettant des dosages à très faible concentration dans les prélèvements afin de limiter l'impact environnemental et les coûts des traceurs.

Méthode de l'injection à débit constant

La méthode de l'injection à débit constant consiste à injecter dans le cours d'eau un débit constant connu q d'une solution de traceur, à la concentration C_1, pendant un temps déterminé. La durée de l'injection doit être telle que la concentration C_2 du traceur à la section de prélèvement reste

constante pendant un certain laps de temps, appelé « palier ». À partir des hypothèses suivantes :

– le débit Q du cours d'eau est constant pendant la mesure (régime permanent),

– le débit q du traceur à la section de prélèvement est égal à celui de l'injection (pas de pertes), et négligeable devant Q,

– le mélange est homogène à la section de prélèvement.

On en déduit alors le débit du cours d'eau :

$$Q = q \times \left(\frac{C_1}{\overline{C_2}}\right)$$

Méthode par intégration (injection instantanée)

Cette méthode consiste à injecter en un point du cours d'eau un volume V de traceur en solution concentrée C_1. Au terme d'un parcours suffisamment long pour que le mélange avec l'eau de la rivière soit bon, des échantillons sont prélevés, et cela pendant toute la durée T de passage du nuage de traceur. Les prélèvements sont effectués en plusieurs points de la section d'échantillonnage de façon à fournir une valeur moyenne de la concentration C_2 qui évolue en fonction du temps et du point de prélèvement.

L'intégration au cours du temps des différentes valeurs de concentration $C_2(t)$ donne une valeur moyenne $\overline{C_2}$.

Le débit est : $Q = \frac{VxC_1}{Tx\overline{C_2}}$

Avec :

Q : débit du cours d'eau (l/s ou m^3/s),

V : volume de la solution lâchée dans le cours d'eau (l ou m^3),

C_1 : concentration de la solution lâchée dans le cours d'eau (g/l),

$\overline{C_2}$: concentration moyenne du traceur dans les échantillons, obtenue par intégration (g/l),

T : durée du prélèvement.(s).

Cas particulier du jaugeage au sel à l'aide d'une sonde conductimétrique

Dans ce cas, on injecte en un point du cours d'eau une masse connue de sel (NaCl) diluée dans un volume d'eau de la rivière. On place une sonde conductimétrique en aval de l'injection, à une distance suffisamment longue pour que le mélange soit bon. La sonde mesure la conductivité électrique de l'eau qui augmente brusquement lors du passage de l'eau salée.

En solution diluée, une relation linéaire existe entre la conductivité de l'eau et sa concentration en sel dissous. On peut donc en déduire la courbe concentration en fonction du temps. Bien veiller à mesurer une différence de conductivité significative.

■ Utilisation de sondes électromagnétiques

Différents principes de mesure peuvent être mis en œuvre, parmi lesquels on peut citer :

– **Les capteurs électromagnétiques** : un conducteur électrique (l'eau) traversant perpendiculairement un champ magnétique, induit une tension, proportionnelle à la vitesse de passage du liquide et indépendante des caractéristiques telles que densité, viscosité, conductivité électrique, mais non des caractéristiques de sa charge particulaire.

– Les capteurs à **ultrason Doppler**, émettent un signal ultrasonique dans le flux du liquide. Lorsque ce signal est réfléchi par les particules solides ou les bulles d'air, sa fréquence se modifie proportionnellement à la vitesse du fluide. L'ADCP (Acoustic Doppler Current Profiler) permet de mesurer des profils verticaux de vitesse de l'eau en rivière, avec un gain en temps de mesure et en sécurité pour les opérateurs.

– Les capteurs à **ultrasons de transfert**.

Le choix d'un appareil suppose que, préalablement toutes les conditions d'utilisation soient identifiées avec rigueur.

2 • CARACTÈRES ORGANOLEPTIQUES

Ces différents caractères doivent être appréciés au moment du prélèvement : certaines odeurs peuvent, par exemple, disparaître pendant le transport, ou l'aspect de l'échantillon se modifier au cours du stockage (apparition d'une coloration, de précipités, etc.).

2.1 Couleur (Référence de qualité « Eau potable »)

La coloration d'une eau est dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances dissoutes, c'est-à-dire passant à travers un filtre de porosité égale à 0,45 µm. Elle est dite apparente quand les substances en suspension y ajoutent leur propre coloration. Les couleurs réelle et apparente sont approximativement identiques dans l'eau claire et les eaux de faible turbidité.

2.1.1 Méthode au platine-cobalt

■ Principe

La coloration d'une eau placée dans des tubes à colorimétrie est comparée soit avec celle d'une solution de référence de platine-cobalt soit avec des disques de verre colorés et exprimée en unités Hazen.

□ **Matériel spécial**

– Tubes à colorimétrie ou tubes de Nessler (50 ou 100 mL).

□ **Réactifs**

– Solution de platine-cobalt (0,5 g de platine par litre) :

chloroplatinate de potassium (K_2PtCL_6)		1,245 g
chlorure de cobalt cristallisé ($CoCl_2$, 6 H_2O)		1 g
acide chlorhydrique (d = 1,19)		100 mL
eau déionisée ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre le chloroplatinate de potassium et le chlorure de cobalt dans une petite quantité d'eau contenant l'acide chlorhydrique. Étendre à 1 litre après dissolution. Cette solution a, par définition, une couleur de 500 unités Hazen. Conservée dans un flacon de verre à l'obscurité, elle est stable au moins 3 mois.

■ Établissement de la gamme d'étalonnage

Préparer la gamme d'étalonnage en pratiquant les dilutions indiquées dans le tableau de la page suivante.

Couleur en unités Hazen	Nombre de millilitres de la solution à 500 unités Hazen	Eau déionisée (ou ultra-pure) (mL)
5	0,5	49,5
10	1	49
15	1,5	48,5
20	2	48
25	2,5	47,5
30	3	47
35	3,5	46,5
40	4	46
45	4,5	45,5
50	5	45
60	6	44
70	7	43

Effectuer ces opérations dans des tubes à colorimétrie numérotés.

Conservés en flacons de verre bouchés et à l'obscurité, ces solutions sont stables un mois environ mais il est préférable de les préparer avant emploi.

Mode opératoire

Si l'eau contient des matières en suspension, les éliminer par centrifugation ou par filtration sur fibre de verre car le papier a une action décolorante. Avant l'opération, diluer avec de l'eau déionisée (ou ultra-pure) les eaux de couleur supérieure à 70. Remplir un tube de Nessler avec l'échantillon dans des conditions analogues à celles des tubes contenant les solutions étalons. Faire la comparaison en regardant dans l'axe du tube, de haut en bas, au-dessus d'une surface blanche ou réfléchissante orientée de façon telle que la lumière soit renvoyée vers le haut à travers la colonne de liquide.

Expression des résultats

Donner le résultat en nombre d'unités Hazen de la solution de comparaison ayant la coloration la plus proche et tenir compte de la dilution éventuelle.

Remarques

– Une unité Hazen correspond à la coloration d'une solution contenant 1 mg de platine sous forme d'acide chloroplatinique et 2 mg de chlorure de cobalt hexahydraté par litre.

– Au cas où l'on ne posséderait pas de chloroplatinate de potassium, l'acide chloroplatinique peut être préparé comme suit : dissoudre 0,5 g de platine dans de l'eau régale, éliminer l'acide nitrique par plusieurs évaporations successives à sec après addition d'acide chlorhydrique en excès. Le résidu est dissous alors avec 1 g de chlorure de cobalt comme indiqué précédemment.

– Préciser dans le résultat s'il s'agit d'une couleur vraie ou apparente, dans ce dernier cas l'accompagner de la valeur de la turbidité.

– Cette technique n'est pas applicable aux eaux dont les caractéristiques de couleur sont éloignées de celles de l'échelle Hazen. Elle est utilisable pour les effluents industriels moyennant certains aménagements à définir pour chaque cas.

– En présence d'une quantité importante de matières en suspension, centrifuger et faire la mesure sur le surnageant.

2.1.2 Méthode par comparaison avec des disques colorés

Sur le terrain, il est plus commode de comparer la couleur de l'eau à celle d'écrans colorés étalonnés avec une solution de platine-cobalt. Différents modèles sont proposés par les fournisseurs de matériel de laboratoires.

Méthode de référence

Norme NF EN ISO 7887-Qualité de l'eau – Examen et détermination de la couleur. Janvier 1995 (Indice de classement T 90-034.)

2.2 Odeur (Référence de qualité « Eau potable »)

Une eau destinée à l'alimentation doit être inodore. En effet, toute odeur est un signe de pollution ou de la présence de matières organiques en décomposition. Ces substances sont en général en quantité si minime qu'elles ne peuvent être mises en évidence par les méthodes d'analyse ordinaire. Le sens olfactif peut seul, parfois, les déceler.

Les échantillons doivent être prélevés dans des récipients en verre hermétiques. Il faut bannir les récipients en plastique. L'examen doit être pratiqué le plus rapidement possible après le prélèvement. L'échantillon peut éventuellement être conservé à 4 °C (± 2 °C) en évitant toute mise en contact avec des odeurs étrangères. Le temps de stockage ne doit pas dépasser 72 heures.

■ Définition

L'odeur peut être définie comme :

a) l'ensemble des sensations perçues par l'organe olfactif en flairant certaines substances volatiles ;

b) la qualité de cette sensation particulière provoquée par chacune de ces substances.

■ Principe

Dilution de l'eau à examiner jusqu'à ce qu'elle ne présente plus d'odeur perceptible.

☐ **Matériel spécial**

– Une douzaine de fioles coniques de 500 mL bouchées émeri, dotées d'un numéro de série. Les nettoyer parfaitement, les rincer à l'eau inodore avant l'emploi et les réserver à cet usage.

– Thermomètre 0-110 °C (± 1 °C).

– Burette de Mohr 25 mL, ou pipettes de 1, 2, 5 mL, etc.

– Éprouvettes graduées de 250, 200, 100, 50, 25 mL.

– Bouteilles d'un litre bouchées émeri ou PTFE pour les échantillons d'eau à examiner.

– Bain-marie incubation à température constante et homogène de 23 °C ± 2 °C.

☐ **Réactif**

Eau inodore.

Faire passer de l'eau potable sur du charbon actif en grains au débit de 10 à 30 litres à l'heure. Vérifier avant l'emploi l'absence d'odeur.

Il est possible d'employer le montage suivant : utiliser un tube en verre de 50 cm de longueur et 8 cm de diamètre.

Le remplir de charbon actif en grains neuf et boucher les deux extrémités avec de la laine de verre. Protéger le système de la lumière.

Régler les deux adaptateurs permettant la circulation de l'eau, à raison de 100 mL/min. Avant la collecte de l'eau, pratiquer un rinçage de l'appareil jusqu'à noter l'absence d'odeur. Changer le charbon périodiquement, ne pas attendre un développement de bactéries dans la colonne.

■ Mode opératoire

Précautions générales

Le caractère subjectif de la mesure, les variations de sensibilité individuelle font qu'il est recommandé de faire effectuer la mesure par un groupe de cinq personnes. La précision du résultat dépend de la taille du jury. Le lecteur pourra se reporter à la norme NF EN 1622 pour la qualification du jury, les différents types d'essais (essai triangulaire, essai par paire) ; le choix de la méthode (courte ou complète). Une extrême sensibilité n'est pas requise mais une certaine pratique est nécessaire pour développer la sensibilité de l'odorat. Nettoyer soigneusement la verrerie et la rincer à l'eau désodorisée. Numéroter les échantillons afin d'éviter toute influence psychologique, l'opérateur doit ignorer à quelle dilution il a affaire. Opérer dans une pièce à l'abri des odeurs étrangères (fumées de cigarettes, lotions et parfums, savon de toilette, etc.) Examiner toutes les dilutions à la même température et les comparer à un échantillon d'eau sans odeur. Le travail des opérateurs sera ainsi réduit à préciser s'il y a odeur ou pas odeur. Pour les eaux à odeur forte, les diluer suffisamment pour que les opérateurs commencent leur expérience sur des dilutions en dessous du seuil de perception. Pour les eaux colorées ou turbides, il est recommandé d'employer des récipients opaques. Ne pas opérer pendant trop longtemps (1 heure maximum) pour ne pas fatiguer l'odorat.

Détermination de l'odeur

Obtenir approximativement l'échelle des intensités des odeurs de la façon suivante : dans une première fiole conique mettre 50 mL d'échantillon, dans

une deuxième 16 mL, dans une troisième 6 mL et compléter chaque flacon à 240 mL avec de l'eau inodore ; dans une quatrième, mettre 240 mL d'eau désodorisée à titre de référence.

Pour être complète, la détermination pourra également être faite à chaud (40 à 60 °C) après chauffage sur plaque ou dans un bain-marie. Dans tous les cas, ne pas faire varier la température de plus de 2 degrés au cours d'une opération. Secouer chaque flacon 3 ou 4 fois avant de sentir pour caractériser le type d'odeur.

Pour augmenter la précision, respirer tour à tour l'eau désodorisée et l'échantillon de dilution inconnue.

Classer les flacons qui ont une odeur et ceux qui n'en ont pas, puis en déduire les dilutions intermédiaires à faire.

Le nombre de dilutions intermédiaires dépendra de la capacité de l'opérateur à déceler une faible variation d'odeur et de la raison pour laquelle l'intensité de ladite odeur est mesurée. L'habitude permet de conduire à la fois les opérations sur deux échantillons différents d'eau.

Expression des résultats

Les résultats sont donnés en nombre exprimant la valeur du seuil de perception de l'odeur dont la nature est précisée. Cette valeur correspond au chiffre de la plus grnde dilution donnant une odeur perceptible.

Exemple

6 mL dilués dans 240 mL étant la plus grande dilution donnant une odeur perceptible, la valeur du seuil de perception est 240/6 = 40. Tenir compte, pour le résultat final, du seuil de perception trouvé par l'ensemble des opérateurs. Pour cela, prendre la moyenne géométrique des valeurs de seuil de perception de l'odeur trouvée par chacun d'eux.

Opérateur n°	Valeur du seuil de perception de l'odeur
1	4
2	8
3	1,5
4	10
5	2

$$4 \times 8 \times 1{,}5 \times 10 \times 2 = 960.$$

Soit *S*p le seuil de perception ; il est la moyenne géométrique des différents seuils.

$$Sp = \sqrt[5]{960}$$

$$\log Sp = \frac{1}{5} \log 960 = 0{,}596.$$

$$Sp = 3{,}94 \neq 4.$$

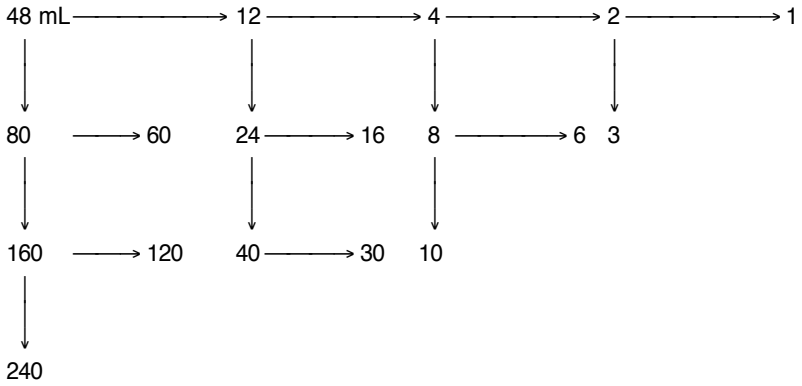
Remarques

– La valeur du seuil de perception ne doit pas être confondue avec la concentration d'odeur du seuil, qui représente la plus petite quantité de matière odorante en milligrammes par litre nécessaire pour émettre une odeur. Cette concentration d'odeur du seuil multipliée par la valeur du seuil de perception de l'odeur donne la concentration de la matière dans l'échantillon.

– Examen simultané de plusieurs échantillons (maximum cinq).

Un travail en équipe permet d'opérer plus rapidement.

Étiqueter les échantillons *A, B, C, D, E,* par exemple. Un opérateur, le dilueur prépare une solution *A* (48 mL d'échantillon + 192 mL d'eau désodorisée) et un flacon de référence de 240 mL d'eau désodorisée, il les remet sans identification aux opérateurs qui font l'essai. Pendant ce temps, le dilueur prépare *B* dans les mêmes conditions. Selon les résultats obtenus sur *A*, il fait les dilutions suivant le tableau ci-après :



Commencer avec 48 mL ; si l'odeur est perceptible, suivre la flèche de droite pour avoir la dilution suivante ; s'il n'est pas perçu d'odeur, suivre la flèche dirigée vers le bas. Opérer ensuite de la même façon avec l'échantillon *B* et les suivants.

Exemple d'une série d'opération :

	Numéro d'ordre	Volume de l'échantillon employé (mL)	Présence ou absence d'odeur	Valeur du seuil de perception
Échantillon *A*	1	48	+	
	3	12	+	
	5	4	0	
	7	8	+	30
Échantillon *B*	2	48	0	
	4	80	0	
	6	160	+	1,5
	8	120	0	

– Certaines eaux peuvent avoir plusieurs odeurs qui se révèleront au fur et à mesure des dilutions.

– Pour apprécier l'odeur de certaines eaux ayant subi un traitement de chloration, il peut être utile d'éliminer le chlore en excès en utilisant du thiosulfate de sodium dans un rapport stœchiométrique exact.

– La détermination à chaud pourra être effectuée à 40 °C plutôt qu'à 60 °C, car les vapeurs sont gênantes.

– Dans le cas où un opérateur doit effectuer des mesures comparatives, il lui est possible de contrôler sa sensibilité d'un jour à l'autre en déterminant la valeur du seuil de perception de dilutions d'alcool butylique. Elle correspond en général à une teneur en alcool butylique de 0,125 mg/L.

– Pour éviter que les opérateurs donnent inconsciemment une réponse en fonction de l'ordre habituel de la dilution, il peut être utile de pratiquer une présentation des dilutions dans un ordre aléatoire et en couplant l'échantillon avec l'eau témoin. Le seuil correspond à la dilution pour laquelle 50 % des opérateurs ont perçu une odeur.

Liste des principaux groupes d'odeurs types

Code		Nature de l'odeur	Description
A		Aromatique	Épice, camphre, girofle, citron
B		Balsamique	Fleurs diverses
C		Chimique	
	Cc	Chlore	Chlore libre
	Ch	Hydrocarbure	Pétrole et dérivés
	Cm	Médicale ou phar.	Iodoforme, phénol, chlorophénol
	Cs	Sulfureuse	Hydrogène sulfuré
D		Désagréable	Goût prononcé
	Df	Poissons	Uroglenopsis et dinobryon
E		Terreuse	Terre ou argile humide
	Ep	Tourbe	Tourbe
F		Fécaloïde	Fosse d'aisance
G		Herbe	Herbe écrasée
M		Moisi	Cave humide, tiroir humide rarement ouvert
V		Vase	Odeur d'étang, herbe ou feuille en décomposition

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN 1622 – Détermination du seuil d'odeur (TON) et du seuil de flaveur (TFN). Octobre 2006 (Indice de classement T 90-035).

2.3 Goût, saveur, flaveur (Référence de qualité « Eau potable »)

Les échantillons doivent être prélevés dans des récipients en verre convenablement nettoyés. Les flacons seront rincés avec l'eau à prélever puis remplis complètement. L'examen doit être pratiqué le plus rapidement possible après le prélèvement.

L'échantillon peut éventuellement être conservé sous réfrigération pendant 24 h, mais pas au-delà de 48 h.

■ Définition

Le goût peut être défini comme :

– l'ensemble des sensations gustatives, olfactives et de sensibilité chimique commune perçues lorsque l'aliment ou la boisson est dans la bouche ;

– la propriété des produits provoquant ces sensations.

La saveur peut être définie comme :

– l'ensemble des sensations perçues à la suite de la stimulation, par certaines substances solubles des bourgeons gustatifs,

– la qualité de cette sensation particulière provoquée par ces substances.

Le « seuil d'apparition de goût », ou seuil de flaveur, correspond, pour un dégustateur donné, à la limite de perception de ce goût, la dilution précédente (plus diluée) n'ayant pas de goût particulier. Si ce seuil est atteint pour V_1 mL d'eau testée + V_2 mL d'eau de référence, le seuil d'apparition de goût est par convention :

$$S = \frac{V_1 + V_2}{V_1}$$

La flaveur peut être définie comme :

– l'ensemble des sensations perçues par l'organe olfactif, les bourgeons gustatifs et la cavité buccale auxquelles peuvent s'ajouter des sensations thermiques, tactiles, chimiques, kinésiques, douloureuses, etc.

■ Principe

Cette mesure repose sur la finesse du sens gustatif de l'opérateur. L'eau est diluée avec de l'eau sans goût (« eau de référence »). La dégustation est effectuée en commençant par les dilutions les plus grandes jusqu'à l'apparition du goût.

□ Réactifs

– Eau de référence : eau de source ou de puits ayant une minéralisation proche de celle de l'eau à tester. Voir montage dans la partie « 2.2 Évaluation de l'odeur ».

– Solutions de référence de seuil d'apparition de goût voisin de 10 :

Solution d'acétate d'amyle à 0,020 mg/L préparée à partir d'une solution mère à 0,5 g/L.

Solution de thymol à 0,020 mg/L préparée à partir d'une solution à 1 g/L.

Solution de géosmine à 0,01 µg/L.

Conserver les solutions mères deux semaines au maximum. Préparer les dilutions extemporanément.

– Eau chlorée.

Plusieurs jours à l'avance, satisfaire la demande en chlore d'une eau puis amener la teneur en chlore de 3 prélèvements de plusieurs litres respectivement à 50, 100 et 150 µg/L en utilisant de préférence une solution mère d'eau de chlore. Préparer et conserver ces eaux à 20 et 30 °C.

Mode opératoire

Précautions diverses :

La précision du résultat dépend de la taille du jury, de sa qualification (voir norme NF EN 1622).

S'assurer que les échantillons sont sans danger pour les opérateurs. S'il y a un doute sur la présence de micro-organismes nocifs, ou de substances toxiques à une concentration toxique, ne pas réaliser l'essai.

Effectuer les dégustations dans un local réservé à cet usage et s'assurer de la propreté rigoureuse de la verrerie employée. Avant chaque dégustation, l'opérateur se rincera la bouche avec de l'eau de référence. Effectuer la dégustation à 23 ± 2 °C. Amener l'eau à tester à la température de dégustation par tout procédé permettant d'atteindre cette température sans surchauffe (bain thermostaté, étuve à circulation d'air), sans agitation et sans modification du goût. Maintenir les flacons contenant l'eau à la même température bien fermés pendant cette opération.

Dégustation

Pour déguster, l'opérateur prendra de l'eau en quantité suffisante dans sa bouche (15 mL environ) pour l'imprégner en totalité.

Prendre un peu d'eau dans la bouche et la faire voyager d'un côté à l'autre (éventuellement, faire passer un peu d'air au travers) puis la rejeter.

Ne pas avaler les échantillons. La dégustation porte sur les dilutions suivantes et débute par les solutions les plus diluées. Utiliser pour les dilutions la même eau que celle confiée à l'opérateur.

Lorsque le seuil d'apparition du goût est atteint, l'opérateur se rince la bouche et recommence la dégustation avec la dilution correspondante : ceci permet de vérifier la validité de son impression.

Dilution n°	Eau à analyser (volume)	Eau de référence (volume)	Seuil de goût
0	1	0	1
1	1	0,5	1,5
2	1	1	2
3	1	2	3
4	1	4	5
5	1	6	7
6	1	9	10
7	1	14	15

Expression des résultats

L'eau examinée est affectée du nombre correspondant au seuil de goût. Si le goût se manifeste brusquement, alors que la dilution précédente était sans goût et si ce phénomène se produit pour les dilutions 2 ou 3, la notation correspondante est majorée de 0,5 (cette façon de faire ne doit pas être utilisée au-delà de la dilution n° 3).

Dans la mesure du possible, préciser la nature de la saveur ou du goût.

Remarques

– La mesure doit intervenir le plus tôt possible après le prélèvement.
– Liste non limitative de saveur et de goût.

Nature de la saveur ou du goût	Remarques
Saveur acide	
Saveur amère	
Saveur salée	sulfates-chlorures
Saveur sucrée	
Saveur salée et amère	eau magnésienne
Goût hydrogéno-carbonaté, alcalin	type eau de Vichy
Goût métallique	fer, manganèse, cuivre…
Goût chloré	
Goût d'hydrocarbures	traces d'hydrocarbures
Goût de mandarine	oxydation de traces d'hydrocarbures
Goût pharmaceutique	produits organiques
Goût de chlorophénol	chlorophénol
Goût de terre	eaux de zones calcaires
Goût de vase	eaux des étangs, eaux stagnantes
Goût de marée	poissons, métabolites de certains organismes du plancton
Goût de moisi	moisissures, champignons inférieurs, levures
Goût de bouchon moisi	herbicides, pesticides

– La finesse du sens gustatif étant variable avec les individus, il est indispensable de sélectionner des dégustateurs en leur faisant évaluer des goûts avec des solutions de référence qui leur serviront également à s'entraîner à distinguer les saveurs différentes.

Pour cela, préparer les solutions suivantes :

Saveur	Produit	Concentration (en g / L)
Acide	acide citrique cristallisé monohydraté	0,43
Amère	caféine cristallisée monohydratée	0,195
Salée	chlorure de sodium anhydre	1,19
Sucrée	saccharose (*)	5,76
« UMAMI »	glutamate de sodium	0,595
Métallique	sulfate ferreux $FeSO_4$ 7 H_2O (**)	0,00475

(*) *Étant donné l'instabilité de cette solution, la préparer quelques heures avant l'essai.*

(**) *Préparer une solution avec de l'eau à* pH *légèrement acide pour éviter la coloration jaune due à l'oxydation du fer.*

– Les fumeurs, les buveurs d'alcool ou les personnes qui consomment couramment l'eau à examiner seront obligatoirement éliminés.

– Un opérateur ayant à effectuer des mesures comparatives dans le temps peut contrôler sa sensibilité chaque jour.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN 1622 – Détermination du seuil d'odeur (TON) et du seuil de flaveur (TFN). Octobre 2006 (Indice de classement T 90-035).

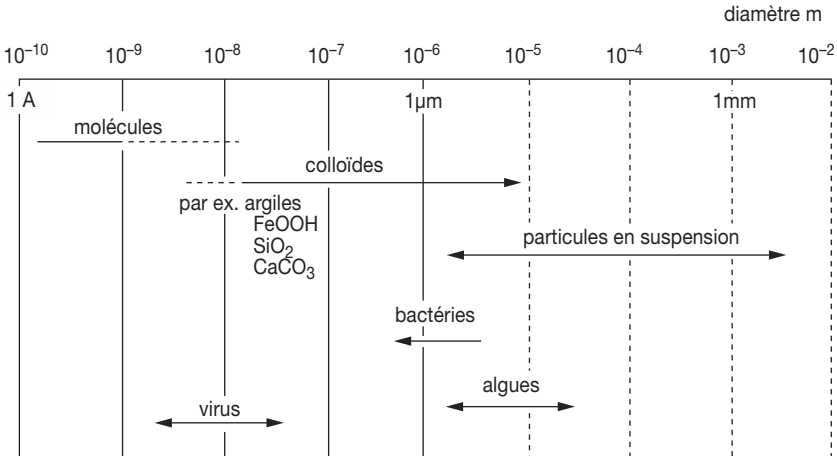
3 • PARTICULES EN SUSPENSION ET COLLOIDES

3.1 Taille des particules dans les eaux naturelles

Les particules sont toujours présentes dans les eaux naturelles, en général, et dans les eaux superficielles, en particulier. Ce sont des particules d'origine minérale, organique ou biologique. Leurs tailles sont comprises entre quelques centièmes de micromètres et quelques millimètres.

On appelle « colloïdes » ou « particules colloïdales », les particules en suspension dont la taille s'étend de quelque 0,01 μm à quelques μm. Celles dont la taille est plus importante sont plutôt appelées « matières en suspension ».

La limite entre les deux classes n'est pas précise car elle dépend de la méthode de détermination des matières en suspension (décantation, centrifugation, filtration). La méthode peut dépendre, quant à elle, outre de la taille, de la nature des particules notamment de la densité et de la forme.



Spectre de taille des particules dans les eaux naturelles

3.2 Matières décantables

Toute particule en suspension peut être théoriquement sédimentée (ou décantée) sous l'action de la pesanteur (gravité), mais à une vitesse qui dépend principalement de la taille et de la densité de la particule, ainsi que de la température de l'eau.

Pour les particules en suspension dans les eaux naturelles, c'est généralement l'expression de STOKES (chute en régime laminaire) qui permet de calculer cette vitesse de sédimentation, connaissant les caractéristiques physiques de la particule (diamètre équivalent à la sphère de même volume, masse volumique ou densité) et la température de l'eau. Cette expression permet aussi d'évaluer le diamètre d'une particule connaissant sa masse volumique (ou sa densité), après mesure de sa vitesse dans une eau dont on connaît la température. C'est le diamètre équivalent à la sphère de même volume que la particule (d_v).

$$v_S = (\rho_S - \rho_L).g.d_v^2/18.\mu_L$$

v_S : vitesse de sédimentation (m. s^{-1}).

ρ_S et ρ_L : masses volumiques de la particule et de l'eau, respectivement (kg. m^{-3}).

μ_L : viscosité dynamique de l'eau (Pa. s).

g = 9,81 m. s^{-2}.

Les matières décantables globales peuvent être évaluées comme suit.

■ Principe

Un certain volume d'eau est abandonné au repos pendant 2 heures. La quantité de matière décantée est déterminée par volumétrie.

□ Matériel spécial

– Tamis module AFNOR n° 38 (mailles de 5 mm de côté).

– Cône d'Imhoff en verre, de 1 litre de capacité et gradué en millilitres.

– Cône de Coin : éprouvette constituée d'une partie conique de 19 cm de hauteur, dont l'angle au sommet de la génératrice et de l'axe est de 9°. La partie conique est surmontée d'une partie cylindrique (longueur : 30 cm ; diamètre intérieur : 6,5 cm).

■ Mode opératoire

Passer l'eau sur le tamis à mailles carrées de 5 mm de côté. L'homogénéiser et en verser 1 litre dans le cône maintenu vertical. Laisser décanter. Effectuer plusieurs lectures du volume décanté, par exemple après 1 h, 1 h 30 et 2 h de sédimentation. Si le niveau arrive entre deux graduations, la teneur en matière sédimentable est le volume correspondant à la graduation inférieure.

■ Expression des résultats

Les résultats s'expriment en millilitres de matières décantées pour 1 litre d'eau. Certains auteurs définissent les matières décantables (pour 1 l d'eau) pour un temps de décantation fixé à 2 heures.

3.3 Matières en suspension

La détermination des matières en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation. La méthode par centrifugation est surtout réservée aux eaux contenant trop de matières colloïdales pour être filtrées dans de bonnes conditions, en particulier si le temps de filtration est supérieur à une heure. Les deux méthodes ont leurs inconvénients respectifs liés à un certain nombre de facteurs. Quelle que soit la méthode choisie, il est nécessaire pour obtenir une reproductibilité satisfaisante de respecter rigoureusement les conditions opératoires et d'utiliser le même type de matériel. D'une façon générale, les matières grossières en suspension doivent être préalablement éliminées par passage sur un tamis (module AFNOR 38) et les dépôts restant dans le flacon de prélèvement soigneusement repris. Il convient d'effectuer la détermination le plus rapidement possible après le prélèvement et de préférence sur la totalité de l'échantillon : rincer le flacon de prélèvement pour éviter les pertes.

3.3.1 Méthode par filtration sur fibre de verre

■ Principe

L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

□ **Matériel spécial**

– Dispositif de filtration sous vide ou sous pression (100 000 à 200 000 Pa).

– Disques filtrants en fibres de verre (plusieurs types de disques commerciaux sont disponibles, la porosité la plus communément utilisée est 1,2 μm).

■ Mode opératoire

Laver le disque de filtration à l'eau distillée, le sécher (105 °C) jusqu'à masse constante, puis le peser à 0,1 mg près après passage au dessiccateur. Le mettre en place sur l'équipement de filtration. Mettre en service le dispositif d'aspiration ou de pression. Verser l'échantillon (V) sur le filtre. Rincer la fiole ayant contenu l'eau à analyser avec 10 mL d'eau permutée. Faire passer sur le filtre cette eau de lavage.

Laisser essorer le filtre, sécher à 105 °C. Laisser refroidir au dessiccateur et peser à 0,1 mg près, jusqu'à masse constante.

■ Expression des résultats

La teneur de l'eau en matières en suspension (mg/L) est donnée par l'expression

$$\frac{M_1 - M_0}{V} \times 1\,000$$

M_0 = masse du disque filtrant avant utilisation (mg).

M_1 = masse du disque filtrant après utilisation (mg).

V = volume d'eau utilisé (mL).

Remarques

– Le volume filtré doit être d'au moins 100 mL et contenir au moins 1 mg de matières filtrables par centimètre carré de surface filtrante, sauf si le volume filtré est supérieur à 500 mL.

– En présence d'hydrocarbures, le filtre doit être lavé avec 2 fois 30 mL de chloroforme.

– Il est préférable de laisser décanter l'échantillon et de verser ensuite le dépôt sur le filtre.

3.3.2 Méthode par centrifugation

Lorsque les particules sont trop petites pour décanter sous l'action de la pesanteur, on peut les centrifuger, en substituant l'accélération gravitaire (g) par l'accélération centrifuge (ω^2.R) définie encore par « K. g », avec :

$$K = \omega^2.R/g \text{ et } \omega = 2\pi.\ N/60$$

R : rayon de centrifugation (m).

N : nombre de tours par minute de la centrifugeuse.

ω : vitesse de rotation angulaire (rad. s^{-1}).

■ Principe

L'eau est centrifugée à environ 3 000 g (soit 5 000 trs/min pour un rayon de centrifugation de 10 cm) pendant 20 minutes. Le culot est recueilli, séché à 105 °C et pesé. Il peut être ensuite calciné à 525 °C et pesé de nouveau.

□ **Matériel spécial**

– Centrifugeuse susceptible de 4 500 tr/min avec pots de 500 mL de préférence.

– Capsule de 100 mL verre borosilicaté, platine, ou silice (pour attaque acide).

■ Mode opératoire

Centrifuger un volume d'eau de façon à recueillir au moins 30 mg de matières. Séparer le liquide surnageant par siphonnage sans perturbation du dépôt et jusqu'à une hauteur de 10 mm de liquide au-dessus du dépôt. Les culots de matières sont transvasés dans une capsule tarée. Rincer les tubes à centrifuger par 3 fois avec une petite quantité d'eau permutée (20 mL). Introduire les eaux de lavages avec les culots dans la capsule séchée à 105 °C. Évaporer l'eau de la capsule au bain-marie. Sécher à l'étuve à 105 °C jusqu'à masse constante. Laisser refroidir au dessiccateur. Peser. Porter ensuite si nécessaire la capsule à 525 °C ± 25 °C pendant 2 heures. Laisser refroidir au dessiccateur et peser, jusqu'à masse constante.

■ Expression des résultats

Soit :

M_1 la masse de la capsule vide ;

M_2 la masse de la capsule pleine après dessiccation à 105 °C ;

M_3 la masse de la capsule pleine après minéralisation à 525 °C ;

V le volume d'eau traitée en millilitres.

La teneur en milligrammes de matières totales en suspension par litre d'eau est donnée par l'expression

$$(M_2 - M_1) \quad \frac{1\ 000}{V}$$

La teneur en milligrammes de ce qui est considéré comme les matières minérales par litre d'eau est donnée par l'expression

$$(M_3 - M_1) \quad \frac{1\ 000}{V}$$

La différence entre les matières totales et les matières minérales est considérée comme les matières organiques.

3.3.3 Méthode par ultra-centrifugation (*)

L'ultra-centrifugation continue permet d'éviter la lenteur et le nombre des opérations inhérentes aux deux autres méthodes.

3.3.4 Examen microscopique du dépôt

L'examen microscopique se pratique sur le culot de centrifugation de l'eau. Les éléments susceptibles d'être rencontrés sont d'origine minérale, végétale ou animale.

Substances minérales : le dépôt est très souvent formé de carbonates terreux (Ca, Mg), de carbonate de fer plus ou moins hydraté. Ces sels qui étaient primitivement dissous à l'état d'hydrogénocarbonates ont été précipités par le départ d'anhydride carbonique.

Des matières siliceuses ou argileuses sont aussi retrouvées. Elles proviennent des terrains traversés et ont été entraînées mécaniquement. La détermination de ces corps est souvent impossible. Quand le dépôt est important, appliquer les méthodes habituelles d'analyse par séparation.

Substances végétales : ces substances sont constituées soit par les éléments mélangés à l'eau, soit par des organismes vivant dans l'eau. Parmi les premiers, il faut citer les débris de graines et de plantes ainsi que les déchets domestiques ou industriels.

Parmi les organismes végétaux qui vivent dans l'eau, les plus fréquents sont les algues (diatomées, chlorophycées, cyanophycées, chrysophycées, etc.).

Substances animales : l'eau peut contenir des fibres musculaires, des cellules épithéliales, des fragments d'insectes, des œufs de parasites, etc. Mais en dehors de ces éléments transportés, existent dans l'eau des organismes animaux vivants : rhizopodes, infusoires, ciliés, rotifères, etc. D'une façon générale, ces différents éléments ne doivent pas être retrouvés dans une eau convenablement épurée, destinée aux usages domestiques.

Méthodes de référence

NF EN 872 (juin 2005). Qualité de l'eau – Dosage des matières en suspension – Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre.

(*) Cf. Suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

NF T 90-105-2 (janvier 1997). Qualité de l'eau – Dosage des matières en suspension – Méthode par centrifugation.

3.4 Résidu total

La détermination du résidu sur l'eau non filtrée permet d'évaluer la teneur en matières dissoutes et en suspension d'une eau, c'est le résidu total. Si l'eau est filtrée préalablement à la mesure le résidu correspond alors aux matières dissoutes (cf. § A-5.1).

3.5 Turbidité (limite de qualité « Eau potable »)

La turbidité d'une eau est due à la présence des particules en suspension, notamment coloïdales : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, etc. L'appréciation de l'abondance de ces particules mesure son degré de turbidité. Celui-ci sera d'autant plus faible que le traitement de l'eau aura été plus efficace.

La turbidité peut être évaluée par un certain nombre de méthodes qui sont pratiquées suivant les nécessités sur le terrain ou au laboratoire.

Certaines méthodes comme celle « des gouttes de mastic » ou celle de Jackson (« candle turbidimeter ») n'ont plus qu'un intérêt historique, ayant été remplacées par l'emploi des turbidimètres optiques.

Il est recommandé d'effectuer la mesure aussi rapidement que possible après le prélèvement.

De toute façon, les échantillons doivent être agités vigoureusement avant la mesure. En raison des caractéristiques propres aux matières en suspension, telles que taille, forme, indice de réfraction, couleur, etc., les difficultés de comparaison sont évidentes. Il en est de même si l'on veut rapprocher les mesures de turbidité des mesures de matières en suspension. Il convient de signaler que la directive du Conseil des communautés européennes a retenu la méthode à la silice et celle à la formazine.

Mesure sur le terrain

La technique consiste à mesurer la profondeur à laquelle un repère cesse d'être visible. Ces méthodes ne sont pratiquement utilisées que pour fournir des informations sur les eaux de surface et les eaux résiduaires.

3.5.1 Méthode au fil de platine

□ **Appareillage**

Fil de platine de 1 mm de diamètre et de 25 mm de long, fixé au bout d'une chaîne de 1,20 m.

■ Mode opératoire

Mesurer la profondeur à laquelle le filament cesse d'être visible, l'œil de l'observateur étant placé à l'anneau terminal de la chaîne c'est-à-dire toujours à 1,20 m du fil de platine.

3.5.2 Méthode de Secchi

Cette méthode convient surtout pour les mesures en lacs et dans les ouvrages des stations de traitement et d'épuration des eaux.

□ Appareillage

Disque blanc (fonte émaillée, porcelaine...) de 200 mm de diamètre, possédant 6 trous de 55 mm chacun, répartis sur un cercle de 120 mm de diamètre.

■ Mode opératoire

Laisser descendre le disque et mesurer la profondeur à partir de laquelle il cesse d'être visible.

3.5.3 Méthode au fluorescope

□ Appareillage

Fluorescope : tube de verre incolore de 600 ± 10 mm de long et d'un diamètre intérieur de 25 ± 1 mm, fermé à sa partie inférieure par un bouchon dont la partie intérieure, peinte en blanc, comporte une croix noire.

■ Mode opératoire

Verser de l'eau dans le tube jusqu'à ce que la croix ne soit plus visible à travers l'épaisseur de l'eau. Noter la hauteur d'eau.

Mesures au laboratoire

■ Principe

La mesure de la turbidité de l'eau peut s'effectuer en utilisant l'effet Tyndall ou l'opacimétrie. L'effet Tyndall est utilisé plus spécialement pour la mesure des faibles turbidités (eau de boisson), l'opacimétrie est appliquée aux eaux de fortes turbidités (eaux brutes, eaux résiduaires). Quel que soit le principe utilisé, l'appareil nécessite un étalonnage.

L'effet Tyndall

Un liquide trouble s'éclaire vivement lorsqu'il est traversé par un faisceau lumineux, c'est le phénomène dit de Tyndall, dû aux particules insolubles en suspension diffusant latéralement une partie des rayons lumineux.

L'intensité de la lumière diffractée dépend de certains facteurs. Elle est liée au nombre et à la dimension des particules, à leur indice de réfraction ainsi qu'à celui du liquide dans lequel elles sont en suspension. Elle est fonction aussi de la longueur d'onde, de la lumière incidente et de la direction de l'observation. Enfin elle peut varier avec la température. L'intensité de la lumière diffractée par les particules sphériques de substances non absorbantes est donnée par la formule de Rayleigh

$$I = I_0 \, K \, \frac{Nv^2}{4} \, \sin^2 \varphi$$

I = Intensité de la « lumière Tyndall » dans une direction faisant un angle φ avec le faisceau initial.

I_0 = Intensité du rayon initial.

N = Nombre de particules causant la déviation dans le volume éclairé.

v = Volume de ces particules.

λ = Longueur d'onde de la radiation utilisée.

L'opacimétrie

Les éléments en suspension dans un liquide absorbent certaines radiations. Cette absorption dépend principalement du nombre des particules en suspension, de leur constitution, de l'épaisseur de liquide traversé et enfin de la longueur d'onde de la radiation incidente. Lorsque l'absorption propre du liquide est négligeable, le rapport entre l'intensité incidente et l'intensité transmise permet, entre certaines limites, de connaître le nombre de ces particules. On admet alors la validité de la loi d'absorption de Beer-Lambert

$$E = \log \frac{I_0}{I} = \alpha\, ce$$

I_0 = Intensité du faisceau incident.

I = Intensité transmise.

e = Épaisseur traversée en centimètre.

c = Concentration en mol par litre.

α = Coefficient d'extinction molaire et décimal, qui exprime par réciproque la valeur en centimètre de l'épaisseur de la couche que doit avoir une solution molaire pour que la lumière perde en la traversant le 1/10 de son intensité primitive. On utilise pour les calculs pratiques les logarithmes décimaux.

La formule théorique relative à l'absorption peut être calculée à partir de la formule de Rayleigh et devient dans ce cas

$$I = I_0\, e^{-KN_1 d^3/\lambda^4}$$

d = Diamètre des particules.

N_1 = Nombre de particules dans l'unité de volume.

☐ Appareils de mesure

De nombreux appareils, reposant sur ces deux principes ont été construits et sont utilisés dans les laboratoires.

L'appareil de référence (turbidimètre optique utilisé pour une turbidité inférieure à 40) comprend un faisceau lumineux qui traverse la cuve de mesure. La lumière diffusée latéralement par les particules en suspension est reçue par une cellule de mesure décalée de 90°. La lumière transmise est reçue par voie directe. Pour que les mesures comparatives d'un appareil à un autre soient satisfaisantes, un certain nombre de conditions doivent être respectées. La norme AFNOR NF EN ISO 7027 a fixé différents paramètres. D'une façon générale, la mesure doit se faire à une longueur d'onde supérieure à 800 nm pour éviter l'influence de certaines substances dissoutes absorbant la lumière (colorants...).

Il existe de nombreux types de photocolorimètres et spectrophotocolorimètres permettant les mesures par absorption (utilisés pour une turbidité supérieure à 40). Chacun d'eux possède des avantages et des inconvénients. Les appareils basés sur l'opacimétrie ne donnent pas entièrement satisfaction, soit en raison de leur sensibilité insuffisante

pour les faibles turbidités, soit du fait d'une diffraction parasite surajoutée. Les appareils utilisant l'effet Tyndall permettent d'effectuer des mesures plus précises, et présentent l'avantage de couvrir une gamme de turbidité plus étendue. En fait, il est préférable de choisir un type d'appareil spécialement adapté aux mesures à effectuer. Certains modèles permettent un enregistrement en continu.

■ Facteurs influençant les mesures de turbidité

L'intensité de la radiation émergente dépend de la dimension et du nombre de particules en suspension ainsi que des indices de réfraction. Pour une concentration donnée, l'effet optique d'une suspension croît avec les *dimensions des particules*, tant que les dimensions sont inférieures à $\lambda/2\pi$; au-delà, l'effet optique décroît avec leurs dimensions. Donc, si deux suspensions examinées dans les mêmes conditions donnent des effets optiques identiques, il faut être certain que les particules sont du même ordre de grandeur pour conclure à l'identité des concentrations.

Pour *le nombre de particules*, la confrontation montre qu'il n'y a pas de formule théorique permettant de relier l'absorption ou la diffusion à la masse de matière en suspension pour tous les cas possibles.

Aussi, pour avoir des mesures précises, devrait-on établir des courbes d'étalonnage avec des caractéristiques identiques à celles des troubles à mesurer. Dans la pratique, on se borne seulement à faire des comparaisons avec des troubles standards.

Au sujet de l'influence des *indices de réfraction*, on note que deux suspensions de même matière, de concentration et de dimensions particulaires identiques réalisées dans des liquides différents ne donnent pas le même effet optique, ceci est dû aux indices de réfraction du liquide et du solide.

3.5.4 Méthode « des gouttes de mastic »

Cette méthode, pratiquement plus utilisée aujourd'hui, s'appuie sur un étalonnage à base de gouttes de mastic dans l'eau distillée (cf. suppléments en ligne sur www.dunod.com).

3.5.5 Méthode à la silice

□ **Réactifs**

– Eau déionisée.

– Suspension de kieselguhr à 100 mg/L.

Le kieselguhr est traité par de l'acide chlorhydrique au 1/2, puis lavé à l'eau ultra pure par centrifugation jusqu'à élimination de toute trace d'acide. Après séchage à l'étuve à 100 °C, il est pulvérisé, porphyrisé, puis passé au tamis module 22.

250 mg de kieselguhr traité sont mis en suspension dans 500 mL d'eau ultra pure. Après agitation périodique pendant 2 heures, cette suspension est laissée au repos durant 48 heures. Le liquide surnageant est alors prélevé sans remuer le dépôt. 100 mL de cette suspension homogène sont évaporés dans une capsule de platine tarée et le résidu pesé de façon à déterminer le taux de kieselguhr de la suspension. Une dilution permet d'obtenir la suspension de kieselguhr à 100 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Numéroter une série de tubes bouchés émeri de 50 mL. Introduire dans chacun d'eux les quantités de réactifs indiquées dans le tableau page suivante.

Parfaire l'homogénéité du trouble par une agitation lente réalisée par un mouvement de rotation de 180° et répété 10 fois. Verser la quantité nécessaire de cette suspension étalon dans la cuve de mesure et l'introduire dans l'appareil.

Effectuer la lecture spectrophotométrique au bout de 4 minutes. Construire la courbe d'étalonnage.

Numéros des tubes	Suspension de kieselguhr à 100 mg / L (mL)	Eau (mL)	Correspondance (mg / L)
1	30	0	100
2	24	6	80
3	18	12	60
4	12	18	40
5	6	24	20
6	3	27	10
7	1,5	28,5	5

■ Mode opératoire

Prélever 50 mL d'eau à examiner après avoir rendu le prélèvement homogène. Effectuer la lecture spectrophotométrique 4 minutes après l'introduction de la cuve dans l'appareil. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

La turbidité s'exprime dans ce cas en milligrammes de silice.

> **Remarque**
>
> Il ne faut pas perdre de vue que les particules en suspension dans une eau sont de nature très diverse et de dimensions extrêmement variables. Ainsi la valeur d'un trouble, mesurée par comparaison avec une gamme de silice ou de mastic, donnera seulement un ordre de grandeur de la turbidité de l'eau. L'imprécision de la lecture sera relativement limitée car il s'agit le plus souvent non d'une évaluation unique, mais d'une série de mesures.

3.5.6 Méthode néphélométrique à la formazine

■ Appareillage

Se reporter à la description du turbidimètre optique (§. 3.5).

□ Réactifs

– Eau déionisée filtrée sur une membrane cellulosique 0,1 μm.

– Suspension mère :

solution à 1 % de sulfate d'hydrazine dans l'eau ultra pure filtrée	5 mL
solution à 10 % d'hexaméthylène tétramine dans l'eau ultra pure filtrée	5 mL

Laisser reposer 24 heures à 20 °C ± 3 °C. Compléter à 100 mL avec l'eau ultra pure. Mélanger. Ne se conserve pas plus d'un mois.

– Suspension fille :

suspension mère		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Cette suspension correspond à 40 unités formazine et doit être refaite toutes les semaines.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Numéroter une série de tubes bouchés émeri de 50 mL. Introduire dans chacun d'eux les quantités de réactifs indiquées ci-dessous :

Numéro des tubes	I	II	III	IV
Suspension fille (mL)	0	10	20	30
Eau déionisée (mL)	30	20	10	0
Correspondance en unités	0	13,3	26,6	40

Parfaire l'homogénéisation. Introduire les quantités nécessaires dans la cuve de mesure. Effectuer les lectures spectrophotométriques. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Prélever 30 mL d'eau à examiner, après avoir rendu le prélèvement homogène. Effectuer la lecture 4 minutes après l'introduction de la cuve dans l'appareil. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La turbidité s'exprime en unités « formazine ».

Remarques

– Si la turbidité de l'eau examinée est supérieure à 40 unités, effectuer une dilution et en tenir compte dans l'expression des résultats. Cependant il faut se souvenir que l'erreur de mesure s'accroît avec la dilution.

– Il existe dans le commerce des suspensions de copolymères de styrène divinylbenzène stables qui peuvent remplacer pour l'étalonnage les suspensions de formazine.

– Les unités généralement employées proviennent de la normalisation ASTM ; les trois unités suivantes sont considérées comme comparables :

unité JTU (*Jackson Turbidity Units*), unité FTU (*Formazine Turbidity Units*), unité NTU (*Nephelometric Turbidity Units*).

Méthode de référence

Norme NF EN ISO 7027 (mars 2007). Qualité de l'eau – détermination de la turbidité (Indice de classement : T-90-033).

3.6. Potentiel ZETA

Principe

Toute particule solide dans l'eau présente à sa surface solide-liquide une charge primaire négative ou positive, voire nulle (au pH de point de charge nulle ou pH_{pcn}). À l'interface, dans le liquide (sur quelques dizaines d'Angstrom d'épaisseur), il existe une double couche électrique (couche de STERN à proximité de la surface, puis couche diffuse de GOUY-CHAPMAN) dont la charge nette est de signe opposé à celui de la charge primaire. Cet ensemble de charges est à l'origine d'un potentiel de surface (potentiel de NERNST) dont la valeur décroît avec la distance à l'interface. Ce phénomène revêt une importance particulière pour les particules colloïdales, en les empêchant de décanter et de s'agglomérer.

À l'intérieur de la double couche, il existe un plan de rupture (souvent considéré comme étant localisé entre les deux couches de STERN et de GOUY-CHAPMAN) au niveau duquel le potentiel de NERNST prend une valeur particulière appelée, potentiel ZETA.

Le potentiel ZETA peut être calculé à partir de la mesure de mobilité électrophorétique (m.e.p.) des particules en suspension, notamment colloïdales. La m.e.p. d'une particule correspond à une vitesse de déplacement (vers une anode ou une cathode) sous l'action d'un champ électrique.

$$\zeta = k.\mu.mep/\varepsilon$$

ζ : potentiel ZETA (V).

μ : viscosité dynamique (Pa. s).

ε : constante diélectrique du milieu (C. V^{-1}.m).

Le signe du potentiel ZETA est, par convention, le même que celui de la charge primaire de la particule. Il se mesure à l'aide d'un zêtamètre et est parfois très utile pour déterminer les bonnes conditions d'une coagulation-floculation d'une eau naturelle.

Appareillage et mesure

Les zêtamètres commerciaux comprennent généralement une cellule pour électrophorèse (cœur de l'appareil), les alimentations électriques et un système d'acquisition de données. Le canal de mesure peut contenir quelques dizaines de millilitres de suspension à analyser. Cette suspension doit être suffisamment conductrice (force ionique de l'ordre de 5 mM à 10 mM) et sa concentration en matière en suspension ne doit pas être trop élevée (inférieure à 10 mg/L pour certains appareils). Son pH et sa température doivent être connus.

Le mode opératoire comprend généralement les étapes suivantes :

– rinçage de la cellule électrophorétique avec de l'eau déionisée (plusieurs fois),

– remplissage de la cellule avec la suspension,

– stabilisation quelques minutes,

– affichage des valeurs de température, viscosité et constante diélectrique,

– effectuer les mesures plusieurs fois,

– conserver les valeurs pour lesquelles les oscillations du tracé du signal sont totalement amorties, pour des valeurs de courant comprises entre les limites indiquées par l'appareil (exemple : 0,1 et 20 mA) et pour trois valeurs successives identiques du potentiel zêta.

Remarques

– Si la suspension doit être diluée, il est préférable de diluer avec de l'eau préfiltrée (débarrassée de ses particules en suspension) pour ne pas modifier la composition ionique.

– Dans le cas d'eaux très douces, augmenter la force ionique (si nécessaire) avec du chlorure de sodium.

3.7 Pouvoir colmatant (*)

La seule mesure de turbidité ne permet pas d'apprécier la totalité de la charge véhiculée par les eaux, notamment la charge planctonique des eaux de surface. Cette charge peut, en certains cas, conduire à un colmatage rapide des filtres.

Il peut être intéressant de connaître le pouvoir colmatant des eaux. La méthode employée consiste essentiellement à filtrer l'eau étudiée sur une toile d'acier inoxydable à mailles très fines et à mesurer le volume d'eau susceptible de passer avant colmatage complet de la toile filtrante. On appelle pouvoir colmatant l'inverse du volume limite (exprimé en litres) qui colmate 1 m^2 de ce dispositif.

3.8 Indices de colmatage

■ Préambule

L'essor des technologies de filtration membranaires des eaux de surface est limité par les problèmes de colmatage des membranes. Le colmatage résulte de l'accumulation de matière à la surface des membranes et un large spectre d'espèces présentes dans les eaux naturelles peut contribuer au colmatage, comme des macromolécules organiques (substances humiques, polysaccharides, protéines…), diverses substances organiques ou inorganiques dissoutes, des substances colloïdales, des particules en suspension ou encore des microorganismes. Le colmatage induit des diminutions des flux de perméation et il est également à l'origine de fortes diminutions des durées de vie des membranes.

La seule mesure de la turbidité ne permet pas d'apprécier la teneur en matière colmatante des eaux et pour évaluer ce caractère, plusieurs tests de filtration simples permettent d'accéder à la détermination d'indices de colmatage. Ces outils reposent généralement sur un mode de filtration

(*) Cf. Suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

frontale, pratiqué à une température de référence de 20 °C. Les tests les plus utilisés sont l'indice de colmatage FI (ou Fouling Index) et l'indice de colmatage modifié MFI (ou Modified Fouling Index).

L'aptitude de ces tests à prédire les risques de colmatage des membranes reste cependant discutable et leur intérêt n'est pas toujours adapté aux techniques de filtration envisagées.

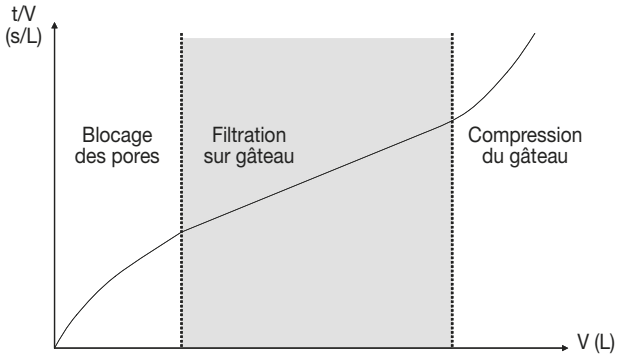
3.8.1 Modèles de colmatage des pores

Les modèles classiques de filtration frontale sont généralement appliqués pour évaluer le colmatage lors de la filtration (frontale ou tangentielle) des eaux naturelles.

Ces modèles considèrent que le colmatage d'un filtre s'établit en 3 étapes successives :

– le blocage des pores,
– la formation d'un gâteau incompressible,
– la formation d'un gâteau compressible.

Ces 3 phases de filtration sont illustrées sur la figure suivante où est représenté le temps mis pour filtrer un volume unitaire (t/V) en fonction du volume filtré (V).



Modélisation du colmatage en filtration frontale

Chaque substance colmatante présente dans la solution à filtrer participe au blocage des pores. La surface poreuse diminue donc proportionnellement au volume d'eau filtré V, jusqu'au blocage complet des pores de la membrane avec formation d'un gâteau.

Les indicateurs de colmatage décrits ci-dessous ont été développés à partir de ces différents modèles.

3.8.2 Indice de colmatage FI (*Fouling Index*)

L'indice de colmatage FI (*Fouling Index*) est considéré comme l'indicateur le plus classique dans le domaine de la filtration membranaire. Il correspond à l'évaluation des phénomènes qui s'opèrent lors première phase

du colmatage par accumulation dans les pores de la membrane (cf. figure « exemple de schéma de montage »).

Il est équivalent au test SDI (*Standard Density Index* ou *Silt Density Index*), développé par l'ASTM (*American Society for Testing and Materials*) sous la référence ASTM D4189-07 (*). On l'appelle encore *Sludge Density Index*.

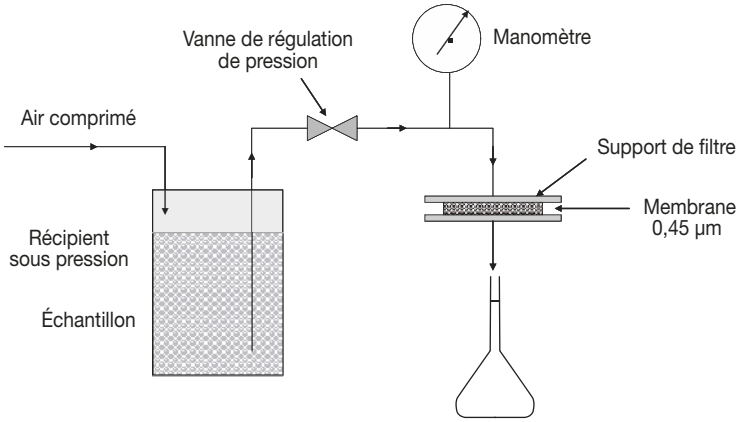
■ Principe

La détermination est basée sur la mesure de la vitesse à laquelle une membrane possédant un diamètre de pores de 0,45 μm se colmate lors d'une filtration continue sous une pression constante de 2,1 bar (30 psi) sur une membrane en acétate de cellulose présentant un diamètre de 47 mm.

L'ASTM recommande de faire la mesure pour un temps d'encrassement de 15 minutes, mais des temps différents peuvent être utilisés (3, 5 ou 10 minutes). Ce temps sera alors précisé dans l'expression des résultats (FI_3, FI_5 ou FI_{10}).

□ Matériel

- système de filtration pour filtre de 47 mm de diamètre,
- filtre en acétate de cellulose de 0,45 μm et de 47 mm de diamètre,
- vanne à aiguille pour régulation de pression,
- manomètre,
- éprouvette graduée ou fiole jaugée de 500 mL.



Exemple de schéma de montage

■ Mode opératoire

Placer le filtre humidifié sur son support et le fixer pour que la membrane soit en position horizontale. Purger l'air et ajuster la pression à 2,1 bar.

(*) ASTM D4189-07 : Standard test method for Silt Density Index (SDI) of water, june 2007.

Maintenir cette pression pendant toute la durée du test, en la réajustant régulièrement si nécessaire.

Mesurer le temps nécessaire pour filtrer un volume fixé d'échantillon (100 à 500 mL, mais le plus souvent 500 mL), tout d'abord sur un filtre propre, puis après un temps de 5, 10 ou 15 minutes plus tard (généralement 15 minutes) :

– La première mesure, s'effectue dès le démarrage de la filtration, sur le filtre propre, et permet de déterminer le temps t_1 nécessaire pour filtrer le premier volume de 500 mL.

– La deuxième mesure commence 15 minutes après le début de la filtration et permet de déterminer le temps t_2, nécessaire pour filtrer un deuxième volume de 500 mL.

■ Expression des résultats

Le pouvoir encrassant P (en %) se calcule en prenant en compte les temps t_0 et t mis pour filtrer 500 mL d'échantillon respectivement au temps 0 et après T minutes de filtration (T = 15 minutes).

$$P(\%) = 100\,(1 - \frac{t_1}{t_2})$$

L'indice de colmatage (FI ou SDI) pour ce temps T entre 2 filtrations est alors :

$$FI = \frac{P}{T} = 100\,(\frac{1 - \frac{t_1}{t_2}}{T})$$

Remarque

Si le pouvoir encrassant est important, on pourra choisir de filtrer un volume inférieur (100 mL par exemple), ou de réduire le temps T entre 2 filtrations à 5 ou 10 minutes. Mais seul le FI_{15} (SDI) est reconnu par l'ASTM comme standard.

3.8.3 Indice de colmatage MFI (*Modified Fouling Index*)

Cet indice est basé sur l'exploitation du modèle de colmatage de type gâteau.

■ Principe

La détermination est réalisée en mesurant le débit de perméat au cours du temps et en traçant l'évolution du rapport t/V en fonction de V. Comme illustré sur la figure précédente, cette évolution présente une partie linéaire dont la pente permet de déduire le MFI.

■ Matériel et mode opératoire

De façon pratique, la détermination du MFI est similaire à celle du SDI, avec l'utilisation du même dispositif expérimental. Le volume de perméat est mesuré au cours du temps de filtration sur une membrane de 0,45 μM sous une pression constante de 2,1 bar (30 psi).

Résultats

Le MFI s'exprime par la pente de la droite t/V = f (V).

Pour préciser que la mesure a été réalisée avec un filtre de 0,45 μm de porosité, il est souvent noté $MFI_{0,45}$.

> **Remarque**
>
> Pour tenter de mieux caractériser le pouvoir colmatant des eaux qui contiennent des substances colmatantes susceptibles de passer à travers une membrane de 0,45 μm de porosité, le test est parfois réalisé avec des membranes d'ultrafiltration (UF) présentant un faible seuil de coupure (entre 1 000 et 100 000 Da, mais le plus souvent de l'ordre de 10 000 Da). Ce test sera alors noté MFI_{UF}.

4 • GAZ DISSOUS (GAZ DE L'EAU)

4.1 Solubilité des gaz dans l'eau

L'eau contient toujours des gaz dissous dont les concentrations dépendent notamment de la température ainsi que de la composition et de la pression de l'atmosphère gazeux avec laquelle elle est en contact.

La loi de HENRY, appliquée à la solubilité des gaz dans l'eau pure, prévoit que la concentration dissoute d'un composé gazeux dans l'eau est directement proportionnelle à la pression partielle de ce composé dans la phase gazeuse au contact de l'eau. Par exemple pour le dioxygène, cette loi s'exprime par :

$$p_{O2} = H_{O2} . X_{O2}$$

p_{O2} : pression partielle du dioxygène dans la phase gazeuse (atm),

X_{O2} : titre molaire du dioxygène dans l'eau (mol. mol^{-1}),

H_{O2} : constante de HENRY du dioxygène à la température considérée (atm),

ou encore par :

$$p_{O2} = H_{O2} . [O_2]$$

$[O_2]$: concentration molaire du dioxygène dans l'eau (mol. L^{-1}),

H_{O2} : constante de HENRY du dioxygène à la température considérée (L. mol^{-1}.atm).

La constante de HENRY peut être également reportée sous la forme $K_H = 1/H$ dans l'expression suivante, avec d'autres unités :

$$[O_2] = K_{H\ (O2)} . p_{O2}$$

$[O_2]$: concentration massique du dioxygène (mol. L^{-1} ou mg. L^{-1}),

p_{O2} : pression partielle du dioxygène dans la phase gazeuse (atm. ou bar),

$K_{H\ (O2)}$: constante de HENRY du dioxygène à la température considérée (mol. L^{-1}.atm^{-1} ou mg. L^{-1}.bar^{-1}).

À partir de la composition de l'air sec, de la pression de vapeur d'eau et de la constante de Henry à la température considérée, il est possible de

calculer la concentration des principaux gaz de l'eau (O_2, N_2 et CO_2) à une pression totale de 1 atmosphère.

Le tableau suivant donne les valeurs de la constante de HENRY, H_X (en L. mol^{-1}.atm) pour les trois gaz principaux de l'air atmosphérique à plusieurs températures, ainsi que la pression partielle de vapeur d'eau, p_{H20} (en atm.).

Valeurs de la constante de Henry (H_X en L. mol^{-1}.atm.) pour les trois gaz principaux de l'eau (O_2, N_2 et CO_2) et pression partielle de vapeur d'eau (p_{H20} en atm.).

Température (°C)	H_{O2} (L. mol^{-1}. atm.)	H_{N2} (L. mol^{-1}. atm.)	H_{CO2} (L. mol^{-1}. atm.)	p_{H20} (atm.)
0	459	953	–	0,0060
5	524	1 055	15,8	0,0086
10	589	1 203	–	0,0121
15	656	1 329	22	0,0161
20	723	1 450	–	0,0231
25	791	1 561	29,7	0,0312
30	859	1 670	–	0,0419
40	970	1 887	–	0,0728
50	1 071	2 058	–	0,1217
60	1 151	2 197	61,4	0,1965

Air sec : p_{O2} = 0,209 atm. ; p_{N2} = 0,791 atm. ; p_{CO2} = 0,0003 atm.

1 atm. = 1,0133 bar = 760 mm de Hg = 760 torrs

Valeurs calculées ou exportées de :

– *Chemical Engineers'Handbook*, R.H. Perry and C.H. Chilton, 5th edition, International Sudent Edition, Mc Graw Hill Kogakusha, ldt, 1973.

– *Chimie des milieux aquatiques*, L. Sigg, P. Behra, W. Stumm, 3e édition, Dunod, Paris, 2000.

4.2 Dosage des gaz totaux (*)

Ce dosage porte sur deux fractions de gaz, les gaz spontanés c'est-à-dire ceux s'échappant à l'émergence, et les gaz dissous dans l'eau. Ces deux

(*) Cf. Suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

fractions sont constituées en général par les mêmes éléments, à savoir, l'anhydride carbonique, l'oxygène, les gaz combustibles, l'azote et les gaz rares.

4.3 Oxygène dissous

La méthode originale de Winkler est sensible à un certain nombre d'interférences. Elle n'est applicable que si l'eau ne contient pas de substances réductrices ou oxydantes telles que des quantités importantes de fer ferreux ou ferrique, de sulfures, de sulfites, de nitrites ou de chlore libre.

La modification d'Alsterberg (à l'azoture) est particulièrement indiquée pour les eaux qui contiennent plus de 0,1 mg/L d'azote sous forme de nitrites, comme c'est souvent le cas pour les eaux résiduaires. Les nitrites sont détruits en milieu acide en libérant de l'azote et du protoxyde d'azote. La méthode volumétrique décrite ci-après correspond à ce principe.

La méthode potentiométrique permet des mesures rapides. Elle est à la fois utilisable sur le terrain et au laboratoire. Pour certains types d'effluents industriels, comme ceux des papeteries, et en présence de composés soufrés, chlorés, de matières organiques, elle donnera les résultats les plus satisfaisants.

Pour les prélèvements, prendre toutes les précautions utiles pour éviter les échanges avec l'oxygène de l'air. Les flacons à prélèvement ne doivent pas dépasser 300 mL et seront de préférence fermés avec des bouchons de verre. La température de l'échantillon sera soigneusement notée au moment du prélèvement. L'analyse sera pratiquée sans délai en opérant de préférence directement sur le flacon de prélèvement. Dans le cas contraire et si l'on opère par titrimétrie, les échantillons peuvent être conservés quelques heures en ajoutant 0,7 mL d'acide sulfurique concentré et 1 mL de solution d'azoture de sodium à 2 %.

4.3.1 Méthode volumétrique (méthode de Winkler modifiée par Alsterberg)

■ Principe

Le précipité d'hydroxyde manganeux fixe complètement l'oxygène pour former de l'oxyde manganique qui, en milieu acide, oxyde l'iodure de potassium préalablement introduit. L'iode libéré est titré par le thiosulfate de sodium.

□ Matériel spécial

Flacons en verre de 100 à 300 mL munis d'un bouchon rôdé et permettant un remplissage sans bulles d'air.

□ Prélèvement

En principe, la fixation de l'oxygène doit être effectuée dans le flacon de prélèvement et immédiatement après celui-ci. Toutes les précautions doivent être prises pour éviter un dégazage ou une introduction d'oxygène.

☐ **Réactifs**

– Solution de sulfate de manganèse (II).

Dissoudre 480 g de sulfate de maganése (II) ($MnSO_4$, 4 H_2O) dans l'eau déionisée et compléter à 1 litre. La solution ne doit pas libérer d'iode lorsqu'on l'ajoute à une solution acidifiée d'iodure de potassium.

– Réactif spécial :

Solution A :

hydroxyde de sodium (NaOH)		350 g
iodure de sodium (NaI)		150 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Solution B :

azoture de sodium (NaN_3) (dangereux à manipuler)	10 g
eau déionisée	40 mL

Ajouter la solution B à 950 mL de la solution A, en agitant constamment. Conserver le réactif en flacon de verre teinté. Ce réactif ne doit pas donner de coloration par dilution ou acidification en présence d'amidon.

– Acide sulfurique concentré (d = 1,83).

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L (ou thiodène ou autre indicateur d'iodométrie).

Préparer dans un bécher une émulsion de 6 g d'amidon soluble. La verser dans 1 litre d'eau bouillante. Maintenir l'ébullition quelques minutes. Laisser reposer 12 heures. Utiliser le surnageant. Cette solution se conserve mieux si on ajoute 1,25 g d'acide salicylique par litre ou quelques gouttes de toluène.

– Solution de thiosulfate de sodium, 0,2 *N* (0,1 mol/L).

Utiliser une solution titrée prête à l'emploi, ou préparer comme suit :

thiosulfate de sodium, 5 H_2O		49,64 g
eau déionisée bouillie et refroidie	*q.s.p.*	1 000 mL
alcool isoamylique pour conservation		5 mL

– Solution de thiosulfate de sodium 0,02 *N* (0,01 mol/L) :

solution 0,2 *N*		100 mL
eau déionisée bouillie et refroidie	*q.s.p.*	1 000 mL

1 mL de cette solution correspond à 0,16 mg d'oxygène dissous.

Préparer cette solution extemporanément.

– Solution d'iodate acide de potassium (KIO_3HIO_3) 0,05 *N* :

iodate acide de potassium		3,25 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'iodate acide de potassium (KIO_3HIO_3) 0,0125 *N* :

diluer 250 mL de la solution mère à 1 litre avec de l'eau permutée.

Détermination du titre de la solution de thiosulfate de sodium 0,0125 N.

Dans une fiole conique, introduire successivement :

iodure de potassium, exempt d'iodate	2 g
eau déionisée	100 à 150 mL
acide sulfurique à 10 %	10 mL

solution d'iodate acide de potassium (KIO_3HIO_3) 0,0125 *N*	40 mL
eau déionisée	200 mL

Titrer l'iode libéré au moyen de la solution de thiosulfate de sodium 0,02 *N* en ajoutant, lorsque la couleur paille très claire apparaît, la solution d'amidon. De préférence ajuster le titre de la solution à 0,02 *N* très exactement. Soit *t* ce titre.

Mode opératoire

Utiliser un flacon spécialement conçu pour le dosage de l'oxygène dissous ou, à défaut, un flacon de 200 mL muni d'un bouchon rodé et dont la capacité exacte a été déterminée par pesée. Très rapidement, après le prélèvement, introduire très près du fond 1 mL de solution de sulfate de manganèse (II) puis 1 mL de réactif spécial. Boucher soigneusement le flacon en ayant soin d'exclure les bulles d'air et mélanger par retournement. Laisser reposer.

Renouveler le mélange autant de fois qu'il est nécessaire pour obtenir 100 mL de phase limpide. Dans le cas d'un échantillon riche en chlorures, il est nécessaire d'agiter au moins 10 minutes. Introduire ensuite 2 mL d'acide sulfurique concentré, en le faisant couler sur les parois puis mélanger à nouveau jusqu'à dissolution complète. Laisser l'iode se répartir uniformément dans le flacon. Effectuer le dosage sur une partie aliquote ou sur la totalité de l'échantillon suivant la teneur supposée en oxygène dissous, soit *V*.

Titrer au moyen de la solution de thiosulfate de sodium 0,0125 *N* jusqu'à l'obtention d'une coloration jaune paille clair. Ajouter alors 1 à 2 mL de solution d'amidon et poursuivre le dosage jusqu'à disparition de la coloration bleue. Soit *x* le volume de solution de thiosulfate de sodium 0,0125 *N* employé.

Expression des résultats

La teneur en oxygène dissous exprimée en milligrammes d'oxygène par litre, est donnée par l'expression

$$\frac{8\,000 \times x \times t \times V_1}{V\,(V_1 - 2)}$$

x = Nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium utilisés.

t = Normalité exacte de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

V = Volume de la partie aliquote prélevée pour le dosage.

V_1 = Volume prélevé qui correspond au volume du flacon.

$(V_1 - 2)$ = Volume corrigé, tenant compte de l'addition des deux premiers réactifs. En l'absence de perte d'eau, négliger cette correction. Pour exprimer les résultats en millilitres d'oxygène par litre à 0 °C et à 760 mm de mercure, multiplier la teneur en milligrammes par litre par 0,698.

Pour exprimer les résultats en pourcentage de saturation à la pression normale (760 mm de mercure), utiliser les tables ou nomogrammes joints.

Remarques

– Les substances oxydantes entraînent des résultats par excès et les substances réductrices des résultats par défaut. La présence de sulfites, de thiosulfates, de chromates, de chlore libre et de matières organiques ne permet pas l'utilisation de la méthode.

– Le fer ferreux à des concentrations supérieures à 1 mg/L entraîne des résultats par défaut et le fer ferrique des résultats par excès. Cependant, en présence de fer ferrique à des teneurs inférieures à 100 mg/L, la méthode peut être appliquée en ajoutant 1 mL de solution de fluorure de potassium (solution à 400 g/L) avant l'ajout d'acide sulfurique.

– De légers écarts existent entre les différentes tables de solubilité de l'oxygène, très probablement dus à des différences dans la préparation des échantillons et dans le type de méthode utilisé pour le dosage de l'oxygène. Pour des mesures comparatives, il convient d'utiliser la même table.

4.3.2 Méthode électrochimique

■ Principe

La réduction de l'oxygène, au niveau d'une cathode convenable, engendre un courant proportionnel à la pression partielle d'oxygène dans la solution.

□ **Matériel spécial**

– Appareil de mesure spécifique (oxymètre) comportant :
  - une sonde à oxygène : cette sonde est constituée d'une cellule électrochimique contenant 2 électrodes métalliques baignant dans un électrolyte et fermée par une membrane perméable à l'oxygène,
  - si possible un dispositif de compensation de température, puisque les membranes présentent une grande variation de perméabilité en fonction de la température.

– Thermomètre.

■ Mode opératoire

Étalonnage de l'appareil

Effectuer l'étalonnage selon les consignes figurant sur la notice de l'appareillage, soit en utilisant une solution saturée par barbotage, soit directement à l'air, puisque la pression partielle d'oxygène est la même dans l'air et dans un liquide saturé à 100 % d'air.

Dosage proprement dit

Effectuer le dosage directement en plongeant les électrodes dans l'eau à analyser. Comme toute méthode instrumentale, le résultat est étroitement lié au mode opératoire et il est nécessaire de se reporter à la notice d'utilisation de l'appareil utilisé.

La mesure étant basée sur une réduction de l'oxygène qui traverse la membrane, il conviendra en particulier de procéder à une agitation douce et régulière pendant la mesure, pour éviter l'épuisement de l'oxygène au voisinage de la membrane qui conduirait à une mesure erronée.

Expression des résultats

La concentration en oxygène dissous, à la température de mesure, est exprimée en mg/L.

Le rapport d'analyse devra indiquer la température de l'échantillon. La concentration en oxygène dissous pourra être exprimée par le taux de saturation (en %) en rapportant la valeur mesurée à la température t à la concentration théorique en oxygène dissous dans l'eau saturée en air humide à la même température t et à la même pression (voir tables et nomogrammes joints).

Certains appareils donnent directement la teneur en oxygène dissous exprimée en pourcentage de saturation. Si les résultats doivent être exprimés en milligrammes d'oxygène par litre, effectuer la transformation en utilisant les tables ou nomogrammes joints.

Remarques

– La sonde de mesure devra faire l'objet d'un entretien régulier (par exemple : changement d'électrolyte ou de membrane) en veillant à ne pas emprisonner de bulles d'air dans la sonde et en respectant les consignes du fabricant.

– La précision de la méthode est voisine de 5 %.

– La mesure est perturbée par les différences de température, mais la plupart des appareils sont équipés d'un dispositif de compensation automatique. Dans le cas contraire, il faudra corriger la valeur mesurée.

– Généralement, les membranes à travers lesquelles diffuse l'oxygène sont en polyéthylène ou en tétrafluoroéthylène, imperméables à l'eau et aux éléments en solution. La cathode réductrice est en or, en argent ou en carbone. Le dispositif est sensible aux minéralisations élevées (eau de mer, eau saumâtre), d'où la nécessité d'utiliser des facteurs de correction.

– Les corps plus oxydants que l'oxygène moléculaire gênent la mesure.

– Certains métaux lourds et de fortes concentrations de savons ou de détergents peuvent perturber les résultats.

– Les composés sulfurés peuvent donner des interférences avec les électrodes au thallium.

– Dans le cas d'eaux riches en chlorures, utiliser les tables ou nomogrammes joints.

– La connaissance de la salinité de l'eau et de la pression atmosphérique lors du prélèvement constitue une indication importante pour l'interprétation des résultats (voir tableaux et nomogrammes joints).

4.3.3 Tables de solubilités de l'oxygène dans l'eau

La solubilité de l'oxygène dans l'eau pure à différentes températures peut être calculée à partir des valeurs de la constante de Henry et de la pression de vapeur d'eau indiquées (§A-4.1).

Solubilité de l'oxygène dans l'eau pure et les solutions salines à 760 mm de Hg

Le tableau suivant présente la solubilité de l'oxygène dans l'eau pure en mg/L (colonnes 2 et 4) en fonction de la température pour une pression atmosphérique de 760 mm de Hg (1 013,3 millibar). Les colonnes 4 et 5 présentent la diminution de cette solubilité (ΔC) par gramme/L de salinité totale.

Solubilité de l'oxygène dans l'eau pure et les solutions salines (air saturé en vapeur d'eau-pression 760 mm de mercure)

	Montgomery (1964)		AFNOR (1975)	
Température (°C)	Oxygène dissous (mg / L)	Variation de la solubilité ΔC	Oxygène dissous (mg / L)	Variation de la solubilité ΔC
0	14,62	0,0925	14,64	0,0925
1	14,23	0,0890	14,22	0,0890
2	13,84	0,0857	13,82	0,0857
3	13,46	0,0827	13,44	0,0827
4	13,11	0,0798	13,09	0,0798
5	12,77	0,0771	12,74	0,0771
6	12,45	0,0745	12,42	0,0745
7	12,13	0,0720	12,11	0,0720
8	11,84	0,0697	11,81	0,0697
9	11,55	0,0675	11,53	0,0675
10	11,28	0,0653	11,26	0,0653
11	11,02	0,0633	11,01	0,0633
12	10,77	0,0614	10,77	0,0614
13	10,53	0,0595	10,53	0,0595
14	10,29	0,0577	10,30	0,0577
15	10,07	0,0559	10,08	0,0559
16	9,86	0,0543	9,86	0,0543
17	9,65	0,0527	9,66	0,0527
18	9,46	0,0511	9,46	0,0511
19	9,27	0,0496	9,27	0,0496
20	9,08	0,0481	9,08	0,0481
21	8,91	0,0467	8,90	0,0467
22	8,74	0,0453	8,73	0,0453
23	8,57	0,0440	8,57	0,0440
24	8,42	0,0427	8,41	0,0427
25	8,26	0,0415	8,25	0,0415
26	8,12	0,0404	8,11	0,0404
27	7,97	0,0393	7,96	0,0393
28	7,84	0,0382	7,82	0,0382
29	7,70	0,0372	7,69	0,0372
30	7,57	0,0362	7,56	0,0362
31	7,45	–	7,43	–
32	7,33	–	7,30	–
33	7,21	–	7,18	–
34	7,09	–	7,07	–
35	6,98	–	6,95	–
36	6,88	–	6,84	–
37	6,77	–	6,73	–
38	6,67	–	6,63	–
39	6,57	–	6,53	–
40	6,47	–	–	–

Note : La solubilité de l'oxygène dans de l'eau contenant *x* grammes de chlorure de sodium par litre est obtenue en soustrayant de la solubilité correspondante *C* dans l'eau pure, la valeur ($x.\Delta C$).
– Les valeurs de ΔC ne sont plus utilisables si la concentration en chlorures (salinité) est très largement supérieure à celle de l'eau de mer.

Réf. Mongomery (1964). – Réf. ANOR (1975).

M. MONTGOMERY. Determination of dissolved oxygen by the Winkler method. *J. Appl. Chem.*, 1964.
Norme AFNOR NF T 90-032. Table de solubilité de l'oxygène dans l'eau. Avril 1975.

Correction de pression atmosphérique ou d'altitude

Quand la pression atmosphérique diffère de 760 mm de Hg, il faut appliquer des corrections, soit en utilisant la loi de HENRY (§ 4.1), soit à l'aide de la formule ci-dessous préconisée par l'AFNOR, ou encore par utilisation de l'abaque ci-après.

$$C' = C.\ [(\pi - p_{H20})/(1013 - p_{H20})]$$

π : pression atmosphérique (différente de 760 mm Hg ou 1 013 mbar).

p_{H20} : pression, en mbar, de vapeur d'eau dans l'air à la température considérée (cf. § 4.1).

C : concentration en oxygène dissous à 760 mm de Hg.

C' : concentration en oxygène dissous à la pression π différente de 760 mm Hg.

Une valeur de π peut être calculée à partir de l'altitude (équation de SCHASSMANN)

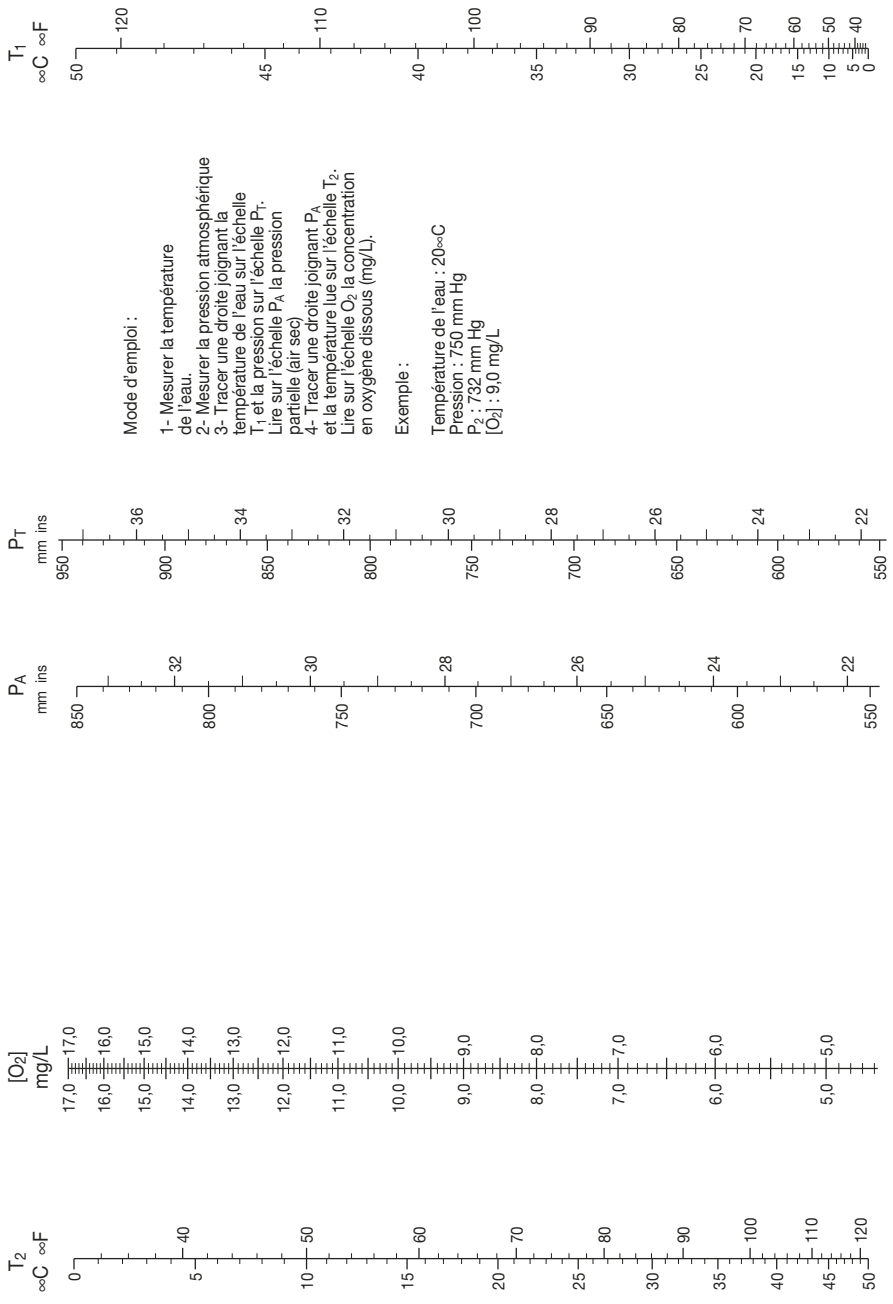
$$\log_{10} \pi = \log_{10} 1013 - (A/18400)$$

A : altitude (en m.).

Méthodes de référence

NF EN 25813 (mars 1993). Qualité de l'eau – Dosage de l'oxygène dissous – Méthode iodométrique (indice de classement T 90-141).

NF EN 25814 (mars 1993). Qualité de l'eau – Dosage de l'oxygène dissous – Méthode iodométrique à la sonde (indice de classement T 90-106).



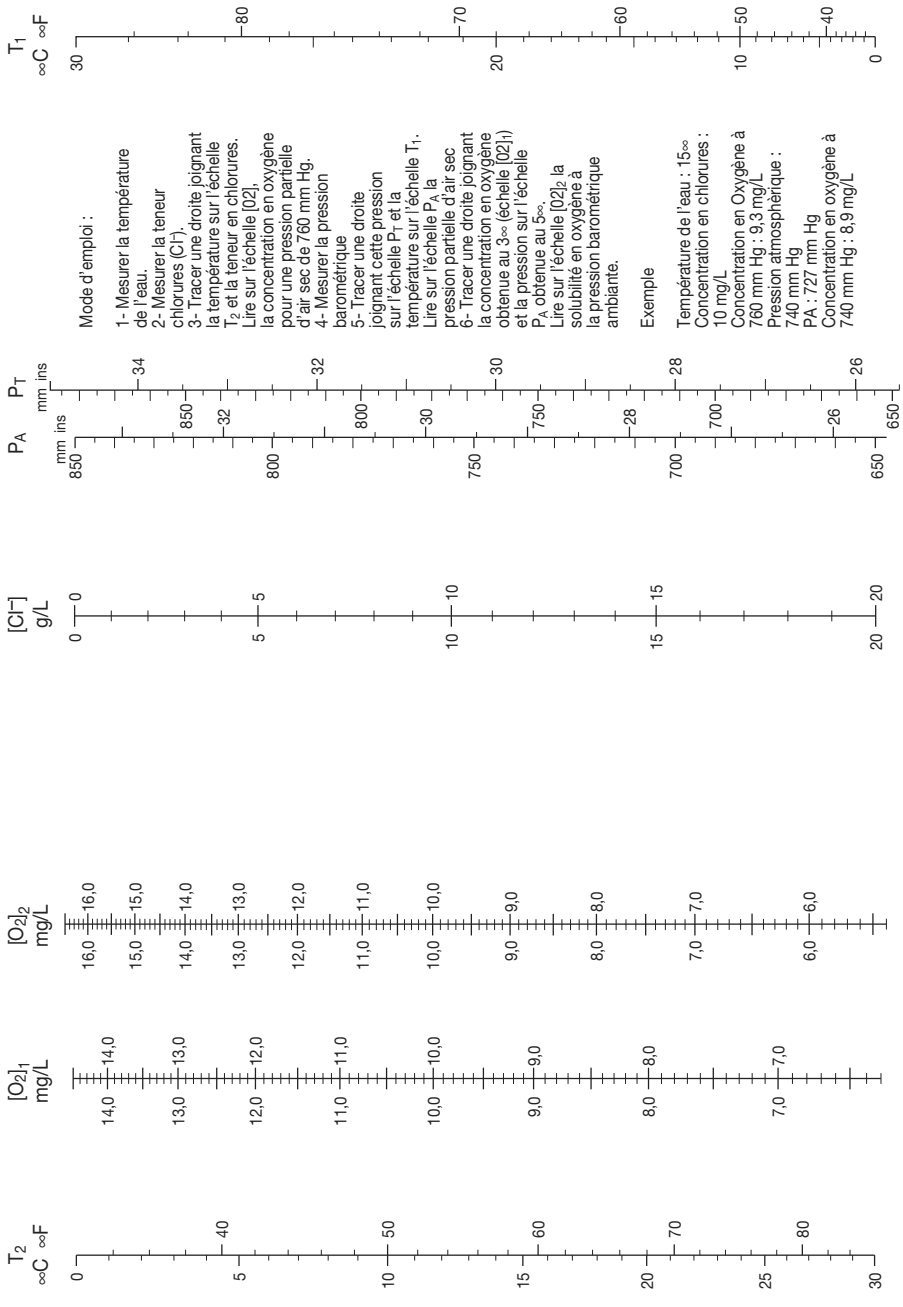
Mode d'emploi :

1- Mesurer la température de l'eau.
2- Mesurer la pression atmosphérique
3- Tracer une droite joignant la température de l'eau sur l'échelle T_1 et la pression sur l'échelle P_T. Lire sur l'échelle P_A la pression partielle (air sec)
4- Tracer une droite joignant P_A et la température lue sur l'échelle T_2. Lire sur l'échelle O_2 la concentration en oxygène dissous (mg/L).

Exemple :

Température de l'eau : 20∞C
Pression : 750 mm Hg
P_2 : 732 mm Hg
$[O_2]$: 9,0 mg/L

Solubilité de l'oxygène (air saturé en vapeur d'eau) – cas de l'eau douce



Solubilité de l'oxygène (air saturé en vapeur d'eau) – cas de l'eau salée

ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE DES EAUX NATURELLES

A

4.4 Dioxyde de carbone (anhydride carbonique)

Les ions bicarbonate et calcium majoritairement présents dans les eaux naturelles ont pour origine la dissolution du carbonate de calcium (calcite ou aragonite) par l'intervention de l'anhydride carbonique dissous dans l'eau et proviennent de l'air atmosphérique.

$$2\ Ca\ CO_{3(s)} + H_2O + CO_2 \leftrightarrow 2\ HCO_3^- + 2\ Ca^{2+}$$

$$HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-} + H^+$$

D'autres carbonates (de fer, manganèse, etc.) sont également dissous, à des concentrations plus faibles, par le même principe.

Le CO_2 total est donc la somme des bicarbonates, des carbonates et de l'anhydride carbonique libre (ou acide carbonique). Si la teneur en CO_2 libre est inférieure à celle prévue par l'équilibre (< CO_2 équilibrant), le premier équilibre ci-dessus se déplace vers la gauche et on observe la formation de carbonate de calcium solide (eau entartrante). *A contrario*, si la teneur en CO_2 libre est supérieure au CO_2 équilibrant, l'équilibre se déplace vers la droite et on observe une dissolution du carbonate de calcium solide (eau agressive).

Il est donc important de pouvoir doser ou calculer la teneur en CO_2 libre.

Remarque

L'anhydride carbonique des carbonates et hydrogénocarbonates est libéré par un excès d'acide. Le CO_2 formé ainsi que le CO_2 libre sont entraînés par un courant d'air exempt de CO_2 , vers une solution de baryte dans laquelle il barbote. Après absorption de l'anhydride carbonique, la baryte restante est titrée (*).

4.4.1 Dioxyde de carbone libre par la méthode titrimétrique

L'anhydride carbonique libre de l'eau est neutralisé par un léger excès d'une solution d'hydroxyde de sodium. Cet excès est ensuite déterminé à l'aide d'une solution titrée d'acide. La solution de soude peut être remplacée par une solution de carbonate de sodium (cf. § A-5.6.2).

4.4.2 Dioxyde de carbone libre par la méthode graphique

Il existe plusieurs méthodes graphiques. Les plus utilisées sont présentées § A-6 (HALLOPEAU-DUBIN, LEGRAND-POIRIER). D'autres, plus anciennes sont moins utilisées (TILLMANS, LANGELIER). Voir les suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

Méthode de référence

NFT 90-011 (février 2001). Qualité de l'eau – Dosage du dioxyde de carbone dissous.

(*) Voir les suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'information.

5 • SALINITÉ TOTALE, POTENTIELS ET TITRES

5.1 Résidus et sels dissous totaux

La détermination du résidu sur l'eau non filtrée permet d'évaluer la teneur en matières dissoutes et en suspension d'une eau, c'est le résidu total. Si l'eau est filtrée préalablement à la mesure, le résidu correspond alors aux matières dissoutes.

Le résultat obtenu est influencé par la température et la durée de la dessiccation.

En effet à 100-105 °C, une partie ou la totalité tant de l'eau interstitielle que de l'eau de cristallisation de certains sels peut s'évaporer.

Vers 105-110 °C, les hydrogénocarbonates se transforment en carbonates, ce qui entraîne une perte d'anhydride carbonique. Entre 105 et 180 °C, en plus de l'eau de cristallisation, il peut y avoir : perte d'ammoniaque à partir des combinaisons ammoniacales, d'acide sulfhydrique à partir de sulfures alcalins, de matières organiques à partir de composés organiques. En outre le chlorure de magnésium peut s'hydrolyser et précipiter sous forme d'hydroxyde.

Le résidu sec déterminé à 180 °C est celui qui se rapprocherait le plus de la somme des différents résultats d'analyses, il est pratiquement exempt d'eau de cristallisation.

Le résidu à 525 °C permet d'estimer (par différence avec le résidu à 105 °C) la teneur en matières organiques. Enfin le résidu sulfaté permet, en particulier, pour les eaux fortement minéralisées d'obtenir des résultats plus stables.

5.1.1 Résidu sec (ou sels dissous totaux sur eau filtrée)

■ Principe

Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans une capsule tarée. Le résidu desséché est ensuite pesé.

□ Matériel spécial

– Capsule en aluminium, en verre borosilcaté ou en platine.
– Bain-marie.
– Étuve réglable à 105-110 °C et 175-185 °C.

Mode opératoire

Évaporer progressivement au bain-marie dans une capsule tarée 500 mL d'eau filtrée, la capsule n'étant remplie qu'à mi-hauteur. Laver la fiole qui a servi à mesurer le volume d'eau avec de l'eau permutée. Les eaux de lavage seront ajoutées en cours d'évaporation.

Une fois toute l'eau évaporée, porter la capsule à l'étuve à 105 °C ou à 180 °C pendant 4 heures et laisser refroidir 1/4 d'heure au dessiccateur. Peser immédiatement et rapidement, le résidu étant en général hygroscopique. Cet inconvénient sera évité en prenant la précaution de déposer 1 ou 2 dg de fluorure de sodium au fond de la capsule avant d'en déterminer la tare. En effet, les fluorures alcalino-terreux sont facilement débarrassés de leur excès d'eau à 105 °C ; protégés contre l'hydrolyse par leur insolubilité, ils cristallisent anhydres en poudre fine.

Expression des résultats

La masse du résidu sec multipliée par 2 donne la masse du résidu sec de 1 litre d'eau.

Remarques

– Dans le cas d'eaux très minéralisées, limiter le prélèvement de façon à ne pas avoir à peser plus de 200 mg.

– Il est utile d'effectuer successivement les pesées à 105 et à 180 °C et de bien préciser les températures utilisées sur le bordereau d'analyse ; éventuellement, répéter les opérations jusqu'à obtention d'une masse constante.

– Pour le résidu total, procéder selon le même mode opératoire mais sur de l'eau non filtrée au préalable.

5.1.2 Résidu minéralisé et perte au feu

Cette mesure ne permet de déterminer qu'approximativement les matières organiques du résidu sec, en raison des décompositions et volatilisations des sels minéraux.

Principe

Minéralisation du résidu sec à 525 °C ± 25 °C.

Matériel spécial

– Four réglable à 525 °C.

Mode opératoire

Après détermination du résidu sec, placer la capsule dans un four réglé à 525 °C pendant une heure et demie. Mettre la capsule à refroidir dans un dessiccateur. Peser. Répéter l'opération jusqu'à masse constante.

Expression des résultats

La masse du résidu à 525 °C multipliée par 2 donne la masse du résidu minéralisé par litre d'eau. La différence entre le résidu sec et le résidu minéralisé donne la perte au feu.

Remarques

– La perte au feu correspond approximativement à la teneur en substances organiques et le résidu minéralisé à la teneur en substances minérales.

– Les incertitudes proviennent de ce que déjà à 110 °C il se produit une décomposition partielle des matières organiques. Par ailleurs il peut y avoir une rétention d'eau de cristallisation ou d'origine hygroscopique (silice et alumine).

De plus, à la minéralisation, à côté des matières organiques, certaines substances inorganiques comme les carbonates, nitrates, chlorures et sels ammoniacaux, peuvent être plus ou moins partiellement décomposées. Certaines méthodes qui font opérer à 600 °C ne font que renforcer ces phénomènes.

– Le traitement au carbonate d'ammoniaque permet de remplacer l'anhydride carbonique éliminé à partir des carbonates alcalino-terreux transformés en oxydes par la minéralisation. Imprégner le résidu minéralisé d'une solution de carbonate d'ammoniaque (carbonate d'ammonium 20 g, hydroxyde d'ammonium 20 mL, eau permutée 80 mL). Évaporer à siccité au bain-marie, placer la capsule à l'étuve réglée à 110 °C. Mettre la capsule à refroidir au dessiccateur, peser.

5.1.3 Détermination du résidu fixe sulfaté

Certaines erreurs, inhérentes à la technique précédente, disparaissent en partie si au lieu de peser le résidu tel quel, il est transformé d'abord en sulfate.

■ Principe

L'addition d'acide sulfurique au résidu déplace les acides faibles de leurs sels qui deviennent des sulfates. Le résidu ainsi transformé est pesé après élimination de l'acide en excès.

□ Matériel spécial

– Capsule de platine ou de quartz (silice).

– Four réglable à 700-800 °C.

□ Réactifs

– Acide sulfurique (d = 1,84).

■ Mode opératoire

Imprégner le résidu sec effectué dans une capsule de platine ou de quartz avec de l'acide sulfurique. Attendre une demi-heure puis évaporer au bain-marie sous une hotte. Placer la capsule pendant une heure et demie dans un four préalablement chauffé à 700 °C. Mettre la capsule à refroidir dans un dessiccateur, peser. Répéter l'opération jusqu'à masse constante.

■ Expression des résultats

La masse du résidu sulfaté multipliée par 2 donne la masse du résidu sulfaté dans un litre d'eau.

Remarques

– Si les cendres obtenues après minéralisation ne sont pas blanches, les imprégner avec un mélange d'acide sulfurique et d'acide nitrique. Évaporer au

bain de sable jusqu'à cessation de dégagement de fumées blanches. Placer la capsule 2 heures dans un four préalablement chauffé à 700 °C.

– L'addition de carbonate d'ammonium avant l'introduction dans le four à 700 °C permet la transformation des hydrogénosulfates en sulfates.

Méthode de référence

Norme NF T 90-029 – Qualité de l'eau – détérmination des résidus secs à 105 °C et 180 °C. Août 2002.

5.2 Conductivité électrique (Référence de qualité « Eau potable »)

5.2.1 Mesure de la conductivité électrique

■ Définition et principe

La conductivité électrique d'une eau (γ) est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm^2 de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm. Elle est l'inverse de la résistivité électrique (ρ).

$$\gamma = 1/\rho = (1/R).\ (L/S)$$

γ : conductivité (en $\Omega^{-1}.m^{-1}$ ou S. m^{-1}).

ρ : résistivité (en Ω. m).

R : résistance (en Ω).

L : distance entre les deux électrodes (en m).

S : surface de chaque électrode (en m^2).

☐ **Matériel spécial**

– Conductimètre. Quel que soit l'appareil employé, utiliser de préférence le courant alternatif en adaptant la fréquence à la gamme de conductivité choisie :

Conductivité (µS / cm)	10	10 à 10 000	10 000
Fréquence (Hz)	50	1 000	10 000

Il est nécessaire que la tension appliquée soit suffisamment faible pour éviter le phénomène d'électrolyse. Le courant continu, bien que produisant une électrolyse, peut être employé lorsque la puissance est limitée à 1 W.

Utiliser de préférence un appareil avec dispositif de compensation de température.

– Une cellule généralement constituée par deux lames carrées de 1 cm de côté, en platine platiné, maintenues parallèles dans un tube de verre, à une distance de 1 cm (constante de 1 cm^{-1}). Lorsque l'appareil plonge dans l'eau, une colonne de liquide de 1 cm^2 de section et de 1 cm de longueur est ainsi délimitée. Certaines cellules possèdent en annexe une chambre thermométrique.

– Entre les mesures, conserver les cellules dans l'eau déionisée.

– Une cellule de type « à écoulement » exempte d'air est nécessaire pour des mesures de conductivité inférieure à 1 mS/m (10 µS/cm).

– Thermomètre au dixième de degré centigrade (si absence de compensation de température).

– Barreau magnétique.

– Bain thermostaté à 25 °C ± 0,1 °C.

– Eau déionisée de conductivité électrique à 25 °C inférieure ou égale à 0,1 mS/m.

– Solution mère de chlorure de potassium 0,1 *N* :

chlorure de potassium déshydraté (qualité analytique)		7,456 g
eau permutée	*q.s.p.*	1 L

Conductivité électrique à 25 °C : 1 290 mS/m.

– Solution de chlorure de potassium 0,01 *N*.

Diluer au 1/10 la solution précédente.

Conductivité électrique à 25 °C : 141 mS/m.

Conserver les solutions de chlorure de potassium 0,1 *N* et 0,01 *N* dans des récipients en polyéthylène au frais.

– Solution de chlorure de potassium 0,001 *N*.

Diluer au 1/100 la solution mère. Préparer cette solution extemporanément.

Conductivité électrique à 25 °C : 14,7 mS/m.

■ Mode opératoire

Prélever l'eau dans un flacon en polyéthylène bien rempli et bien bouché. Effectuer la mesure la plus vite possible.

D'une façon générale, opérer avec de la verrerie rigoureusement propre et rincée, avant usage, avec de l'eau permutée.

Mesure directe

Rincer plusieurs fois la cellule à conductivité, d'abord avec de l'eau permutée puis en la plongeant dans un récipient contenant de l'eau à examiner ; faire la mesure dans un deuxième récipient en prenant soin que les électrodes de platine soient complètement immergées. Agiter le liquide (barreau magnétique) afin que la concentration ionique entre les électrodes soit identique à celle du liquide ambiant. Cette agitation permet aussi d'éliminer les bulles d'air sur les électrodes. Introduire alors le thermomètre aussi près que possible de la cellule. Opérer de préférence à la température de référence de 25 °C. La température du liquide ne devra en aucun cas varier pendant la mesure. L'utilisation du bain thermostaté facilite l'équilibre thermique et améliore les résultats de la mesure.

■ Corrections en fonction de la température

La conductivité d'un liquide dépend largement de la température. Cette dernière sera relevée très exactement au cours de la mesure. En dehors de 25 °C, effectuer une correction de la conductivité électrique mesurée à θ °C d'après la formule

$$C_{25\,°C} = C_T \times f$$

C_T = Conductivité obtenue à la température lue sur le thermomètre.

f est donné par le tableau spécial (page précédente).

Tableau
Facteur de correction de température f_{25}

θ	f_{25}									
°C	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1,918	1,912	1,906	1,899	1,893	1,887	1,881	1,875	1,869	1,863
1	1,857	1,851	1,845	1,840	1,834	1,829	1,822	1,817	1,811	1,805
2	1,800	1,794	1,788	1,783	1,777	1,772	1,766	1,761	1,756	1,750
3	1,745	1,740	1,734	1,729	1,724	1,719	1,713	1,708	1,703	1,698
4	1,693	1,688	1,683	1,678	1,673	1,668	1,663	1,658	1,653	1,648
5	1,643	1,638	1,634	1,629	1,624	1,619	1,615	1,610	1,605	1,601
6	1,596	1,591	1,587	1,582	1,578	1,573	1,569	1,564	1,560	1,555
7	1,551	1,547	1,542	1,538	1,534	1,529	1,525	1,521	1,516	1,512
8	1,508	1,504	1,500	1,496	1,491	1,487	1,483	1,479	1,475	1,471
9	1,467	1,463	1,459	1,455	1,451	1,447	1,443	1,439	1,436	1,432
10	1,428	1,424	1,420	1,416	1,413	1,409	1,405	1,401	1,398	1,394
11	1,390	1,387	1,383	1,379	1,376	1,372	1,369	1,365	1,362	1,358
12	1,354	1,351	1,347	1,344	1,341	1,337	1,334	1,330	1,327	1,323
13	1,320	1,317	1,313	1,310	1,307	1,303	1,300	1,297	1,294	1,290
14	1,287	1,284	1,281	1,278	1,274	1,271	1,268	1,265	1,262	1,259
15	1,256	1,253	1,249	1,246	1,243	1,240	1,237	1,234	1,231	1,228
16	1,225	1,222	1,219	1,216	1,214	1,211	1,208	1,205	1,202	1,199
17	1,196	1,193	1,191	1,188	1,185	1,182	1,179	1,177	1,174	1,171

Tableau (suite)
Facteur de correction de température f_{25}

θ	f_{25}									
°C	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
18	1,168	1,166	1,163	1,160	1,157	1,155	1,152	1,149	1,147	1,144
19	1,141	1,139	1,136	1,134	1,131	1,128	1,126	1,123	1,121	1,118
20	1,116	1,113	1,111	1,108	1,105	1,103	1,101	1,098	1,096	1,093
21	1,091	1,088	1,086	1,083	1,081	1,079	1,076	1,074	1,071	1,069
22	1,067	1,064	1,062	1,060	1,057	1,055	1,053	1,051	1,048	1,046
23	1,044	1,041	1,039	1,037	1,035	1,032	1,030	1,028	1,026	1,024
24	1,021	1,019	1,017	1,015	1,013	1,011	1,008	1,006	1,004	1,002
25	1,000	0,998	0,996	0,994	0,992	0,990	0,987	0,985	0,983	0,981
26	0,979	0,977	0,975	0,973	0,971	0,969	0,967	0,965	0,963	0,961
27	0,959	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942
28	0,940	0,938	0,936	0,934	0,933	0,931	0,929	0,927	0,925	0,923
29	0,921	0,920	0,918	0,916	0,914	0,912	0,911	0,909	0,907	0,905
30	0,903	0,902	0,900	0,898	0,896	0,895	0,893	0,891	0,889	0,888
31	0,886	0,884	0,883	0,881	0,879	0,877	0,876	0,874	0,872	0,871
32	0,869	0,867	0,866	0,864	0,863	0,861	0,859	0,858	0,856	0,854
33	0,853	0,851	0,850	0,848	0,846	0,845	0,843	0,842	0,840	0,839
34	0,837	0,835	0,834	0,832	0,831	0,829	0,828	0,826	0,825	0,823
35	0,822	0,820	0,819	0,817	0,816	0,814	0,813	0,811	0,810	0,808

Si la conductivité doit être déterminée à 20 °C (comme le précise la norme AFNOR ou encore pour utiliser les relations du § 5.2.3), les valeurs indiquées pour les solutions standards à 25 °C ou mesurées sur l'eau à étudier (à n'importe quelle température) peuvent être corrigées par la formule suivante :

$$\gamma_{20} = \gamma_{\theta} \cdot [1 + \alpha(20 - \theta)]$$

α : coefficient de température de l'eau qui doit être déterminé en mesurant la conductivité de la même eau à (au moins) deux températures.

Détermination de la constante d'une cellule

Chaque cellule possède une constante qui lui est propre, mais qui varie en fonction de la concentration en sels. Il convient donc, en toute rigueur de la déterminer dans une zone de concentration de solutions de chlorure de potassium voisine de celle qui est à mesurer. Ceci est particulièrement vrai pour des résistivités inférieures à 1 000 Ω . cm, soit des conductivités supérieures à 1 000 µS/cm. Il est d'ailleurs très utile, d'un point de vue pratique, de tracer la courbe de variation de la constante de cellule en fonction de la conductivité.

Pour la détermination pratique de la constante, mesurer la conductivité γ d'une solution étalon de conductivité connue γ °. La constante de cellule est égale à

$$K = \frac{\gamma}{\gamma^{\circ}}$$

L'étalonnage doit toujours être effectué à la température de référence de 25,0 ± 0,1 °C car les facteurs de correction de température du tableau ne sont pas applicables aux solutions de chlorure de potassium utilisées pour l'étalonnage des cellules de mesure de conductivité.

Lors de chaque série de mesures, il est recommandé de pratiquer l'étalonnage des électrodes avec une solution de chlorure de potassium 0,01 *N*. Cette opération est à effectuer chaque semaine avec des solutions 0,1 ; 0,01 et 0,001 *N*. Un nouvel étalonnage est de plus indispensable après tout changement d'électrode. Les appareils actuels sont équipés d'un dispositif de correction de la constante et permettent ainsi des lectures directes.

Platinage des électrodes

Replatiner les électrodes si la couche de platine est endommagée. Pour cela, gratter prudemment la plus grande partie de la mousse de platine, puis décaper le reste à l'eau régale diluée. Rincer soigneusement à l'eau déionisée. Tremper les électrodes dans une solution sulfochromique chaude et rincer de nouveau la cellule à l'eau permutée. L'immerger ensuite dans la solution suivante :

Acide hexachloroplatinique, 6 H_2O	1,5 g
Acétate de plomb	0,0125 g
Eau déionisée	50 mL

Relier les électrodes à un accumulateur de 6 V. Ajuster l'intensité à 20 mA et laisser passer le courant pendant 15 minutes. Il se produit une électrolyse entraînant un dépôt de mousse de platine au pôle négatif. Intervertir ensuite les connexions de la cellule de mesure et platiner la seconde élec-

trode de la même façon. La cellule sera alors lavée à l'eau permutée et plongée dans une solution diluée d'acide sulfurique. Relier les électrodes pendant quelques minutes à l'accumulateur en les alternant. Rincer ensuite plusieurs fois à l'eau déionisée puis vérifier la constante d'étalonnage.

Remarques

– Précision des résultats : elle dépend surtout de la bonne conduite des opérations et de la qualité du matériel. Dans les meilleures conditions on peut atteindre ± 5 %.

– Autrefois, les mesures de conductivité étaient données à la température de 20 °C. Si la composition des eaux est proche de celle rencontrée habituellement, et si la conductivité est comprise entre 10 et 100 mS/m, il est possible de transformer les anciennes valeurs lues à 20 °C en valeurs à 25 °C en les multipliant par 1,116.

– Dans le cas des eaux dont la minéralisation dépasse 700 mg/L, il est préférable d'opérer selon la méthode par dilution.

– Les matières en suspension, les huiles, les bulles d'air peuvent produire des interférences.

5.2.2 Conductivité équivalente et conductivité réelle

La « conductivité équivalente » est le quotient de la conductivité par la concentration, exprimée en équivalents-grammes par centimètre cube. Elle varie avec la concentration et différemment pour chaque ion ce qui rend difficile le calcul de la conductivité réelle à partir de la conductivité mesurée sur les solutions diluées.

En effet, la courbe de conductivité en fonction de la concentration n'est pas linéaire ; pour chaque ion en solution, il existe une conductivité limite qui tend vers un maximum et ce avant la saturation en sel considéré. D'un point de vue pratique, ce phénomène intervient à partir de quelques grammes par litre suivant la nature de la salinité. On peut alors utiliser la courbe de conductivité en fonction de la concentration en chlorure de potassium. À la conductivité mesurée sur la dilution correspond en abscisse une concentration théorique en chlorure de potassium. En multipliant la concentration théorique par la dilution, on obtient une valeur qui, à partir de l'abscisse permet de trouver en ordonnée, sur la courbe, une valeur correspondante de conductivité.

Cette évaluation de la conductivité réelle d'après la conductivité de la solution diluée établie par référence avec du chlorure de potassium est sujette à des erreurs pour des eaux qui s'écartent de cette composition. Sur le graphique ci-après, on voit que les variations de la conductivité en fonction de la dilution sont très différentes suivant les types de minéralisation des eaux.

5.2.3 Conductivité permanente

La conductivité permanente peut se déterminer en réalisant un essai d'ionisation par dilution et sur l'eau préalablement portée à ébullition (Touplain), pour cela :

– Placer un volume *V* d'eau (500 mL par exemple) dans un ballon de verre à fond en quartz ou en verre borosilicaté. Porter à ébullition pendant 5 minutes. Supprimer le chauffage.

– Fermer le ballon avec un bouchon terminé par un robinet de verre en position de fermeture. Après refroidissement ouvrir le robinet pour laisser entrer l'air. Verser alors le liquide dans une fiole jaugée de 500 mL et compléter avec de l'eau permutée pure. Filtrer et effectuer la mesure sur cette solution.

Pour les eaux ayant une forte teneur en sels minéraux, résidu sec supérieur à 700 mg/L, procéder à la dilution de l'eau avant de déterminer la conductivité.

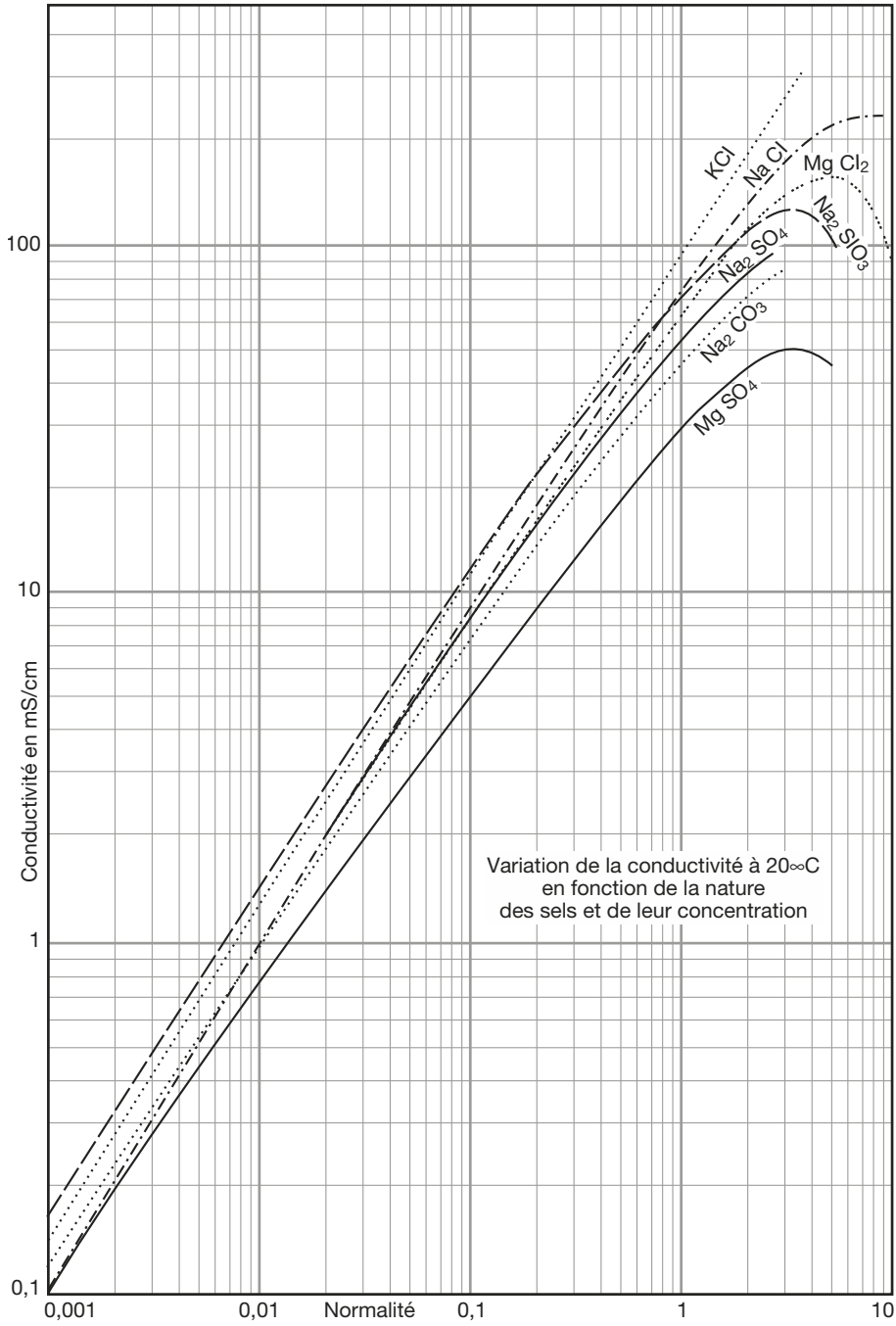
5.2.4 Minéralisation globale de l'eau

Il existe une relation entre la teneur en sels dissous d'une eau et sa conductivité. Toutefois, la minéralisation déterminée par pesée de l'extrait sec (cf. § A-5.1) n'est pas rigoureusement identique à celle calculée à partir de la conductivité, étant donné les erreurs inhérentes à la détermination de chacune de ces deux mesures. En effet, l'évaporation peut entraîner des transformations de la structure de certains sels : hydrogénocarbonates dissociés et donnant des carbonates, cristallisation des sulfates avec un certain nombre de molécules d'eau, si bien que le poids de l'extrait sec ne représente pas avec exactitude celui des sels dissous. D'autre part la mesure de la conductivité est influencée par le *p*H de la solution, la valence des ions et le degré d'ionisation.
En fait, le calcul de la minéralisation à partir de la conductivité ne permet pas d'avoir une valeur exacte. Les différences entre les résidus secs et la minéralisation obtenue par cette méthode sont très fréquentes. La possibilité ainsi offerte a surtout un intérêt dans le cas de vérifications de concordance ou dans l'étude de l'évolution d'une perturbation.

Tableau de calcul de la minéralisation à partir de la conductivité

Conductivité (µS/cm)	Minéralisation (mg/L)
Conductivité inférieure à 50 µS/cm	**1,365 079 × conductivité (*) (µS/cm) à 20 °C**
Conductivité comprise entre 50 et 166 µS/cm	**0,947 658 × conductivité (*) (µS/cm) à 20 °C**
Conductivité comprise entre 166 et 333 µS/cm	**0,769 574 × conductivité (*) (µS/cm) à 20 °C**
Conductivité comprise entre 333 et 833 µS/cm	**0,715 920 × conductivité (*) (µS/cm) à 20 °C**
Conductivité comprise entre 833 et 10 000 µS/cm	**0,758 544 × conductivité (*) (µS/cm) à 20 °C**
Conductivité supérieure à 10 000 µS/cm	**0,850 432 × conductivité (*) (µS/cm) à 20 °C**

(*) × 1,116 pour 25 °C.
C. RICHARD, NGUYEN VAN CU. Relation entre la résistivité d'une eau et son taux de minéralisation. L'eau, 1961, 1, p . 22-24.



Variation de la conductivité à 20 °C en fonction de la nature des sels et de leur concentration

Cependant la minéralisation globale d'une eau peut être calculée rapidement par l'une des formules suivantes :

– Minéralisation (mg/L) : 688 000 × conductivité à 20 °C (S/cm).

– Somme des anions ou des cations (mEq/L) : 10 × conductivité à 20 °C (mS/cm).

La minéralisation globale déterminée au moyen de ces formules est inférieure à celle obtenue par pesée de l'extrait sec. Elle ne s'en rapproche que pour les eaux de minéralisation moyenne, ayant une conductivité comprise entre 333 et 833 µs/cm. Le tableau précédent permet d'améliorer la concordance des résultats, en utilisant des formules qui tiennent compte de l'importance de la minéralisation.

Méthodes de référence

NF EN 27888. Qualité de l'eau – Détermination de la conductivité (Indice de classement : T90-031). Janvier 1994.

NF T90-111. Essais des eaux – Évaluation de la teneur en sels dissous à partir de la détermination de la conductivité électrique théorique. Septembre 1975.

5.3 *p*H (Référence de qualité « Eau potable »)

Le pH est relié à l'activité en protons par :

$$pH = -\log_{10} a_H$$

a_H : activité en ions H^+ à l'équilibre,

avec confusion généralement admise entre l'activité et la concentration, erreur qui peut être considérée comme négligeable en eau douce, mais qui devient significative en eau fortement minéralisée, saumâtre ou (évidemment) en eau de mer.

Les valeurs du pH peuvent être calculées dans des cas simples. Si on confond activité et concentration, la valeur approchée du pH d'une solution d'acide fort ou de base forte (dits « totalement dissociés ») est directement relié à la concentration de l'acide ou de la base :

$$pH = -\log_{10} [\text{acide fort}] \text{ ou } pH = 14 + \log_{10} [\text{base forte}]$$

Pour un monoacide faible, dont l'équilibre acide/base, défini par une constante d'équilibre ou constante d'acidité K_a, est le suivant $HB \leftrightarrow B + H^+$ avec $K_a = a_H \cdot a_B/a_{HB}$, l'expression du pH est :

$$pH = pK_a + \log a_B/a_{HB}$$

En confondant activité et concentration et avec quelques approximations, la valeur du pH dans ce cas peut être reliée à la concentration en acide faible :

$$pH = ½\, pK_a - ½ \log_{10} [\text{acide faible}]$$

Pour une base faible, la même approche conduit à :

$$pH = 7 + ½\, pK_a + ½ \log_{10} [\text{base faible}]$$

Remarque

– Une solution tampon est une solution dont le pH ne varie peu lorsque de faibles quantités d'acide ou de base sont ajoutées. On les obtient en mélangeant dans des proportions identiques un acide faible et sa base conjuguée. Dans ce cas le pH de la solution est égale au pK_a.

Dans les eaux naturelles, c'est principalement les deux équilibres de l'acide carbonique (diacide faible) qui imposent la valeur du pH, bien que d'autres espèces peuvent avoir un effet non négligeable comme les équilibres de l'acide phosphorique (triacide faible), de l'ion ammonium (acide faible) ou certaines matières organiques (acides organiques comme les substances humiques).

5.3.1 Méthode colorimétrique

■ Principe

L'eau à analyser est additionnée d'un indicateur et la coloration obtenue comparée à une échelle de teintes préparées à partir de solutions de *p*H connues.

□ **Matériel spécial**

– Comparateur de *p*H avec tubes ou disques.

– Colorimètre.

□ **Réactifs**

– Utiliser de l'eau déionisée.

– Solution de base d'indicateur coloré

Peser exactement 0,1 g de chaque indicateur à ajouter dans la quantité d'hydroxyde de sodium 0,05 *N* indiquée dans le tableau ci-après.

Nom de l'indicateur	mL de NaOH 0,05 *N* ajoutés	Zone de *p*H d'utilisation	Virage
Pourpre de bromocrésol	3,7	5,2 à 6,8	Jaune-pourpre
Bleu de bromothymol	3,2	6,0 à 7,6	Jaune-bleu
Rouge de crésol	5,3	7,2 à 8,8	Jaune-rouge
Bleu de thymol	4,3	8,0 à 9,6	Jaune pâle-bleu

Lorsque tout est dissous, amener à 25 mL pour obtenir la solution de base.

Pour la mesure diluer 1 mL de solution de base avec 9 mL d'eau. L'indicateur est alors prêt pour l'emploi.

■ Solutions tampons de référence

Solutions à préparer à partir de produits chimiques de haute pureté et d'eau ultra-pure.

A. Solution d'acide chlorhydrique 0,2 *N* vérifiée par acidimétrie.

B. Solution d'hydroxyde de sodium 0,2 *N*. Doser la solution à l'aide de la solution A et ajuster.

C. Solution de chlorure de potassium 0,2 *N* (14,912 g/L).
D. Solution d'hydrogénophtalate de potassium pur 0,2 *N* (40,828 g/L).
E. Solution de dihydrogénophosphate de potassium (27,231 g/L).
F. Solution double d'acide borique et de chlorure de potassium 0,2 *N* :

acide borique	12,405 g/L
chlorure de potassium pur	14,912 g/L

Composition des mélanges

*p*H 1	Solution *A* Solution *C* eau ultra pure	97 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 1,2	Solution *A* Solution *C* eau ultra pure	64,5 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 1,4	Solution *A* Solution *C* eau ultra pure	41,5 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 1,6	Solution *A* Solution *C* eau ultra pure	26,3 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 1,8	Solution *A* Solution *C* eau ultra pure	16,6 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 2	Solution *A* Solution *C* eau ultra pure	10,6 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 2,2	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	46,7 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 2,4	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	39,6 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 2,6	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	32,95 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 2,8	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	26,42 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 3	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	20,32 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 3,2	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	14,7 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL
*p*H 3,4	Solution *A* Solution *D* eau ultra pure	9,9 mL 50 mL *q.s.p.* 200 mL

	Solution *A*	5,97 mL
*p*H 3,6	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *A*	2,63 mL
*p*H 3,8	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	0,4 mL
*p*H 4	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	3,7 mL
*p*H 4,2	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	7,5 mL
*p*H 4,4	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	12,15 mL
*p*H 4,6	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	17,7 mL
*p*H 4,8	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	23,85 mL
*p*H 5	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	29,95 mL
*p*H 5,2	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	35,45 mL
*p*H 5,4	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	39,85 mL
*p*H 5,6	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	43 mL
*p*H 5,8	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	3,72 mL
*p*H 5,8	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	45,45 mL
*p*H 6	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	5,70 mL
*p*H 6	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	47 mL
*p*H 6,2	Solution *D*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL

	Solution *B*	8,6 mL
*p*H 6,2	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	12,6 mL
*p*H 6,4	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	17,8 mL
*p*H 6,6	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	23,65 mL
*p*H 6,8	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	29,63 mL
*p*H 7	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	35 mL
*p*H 7,2	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	39,5 mL
*p*H 7,4	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	42,8 mL
*p*H 7,6	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	45,2 mL
*p*H 7,8	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	2,61 mL
*p*H 7,8	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	46,8 mL
*p*H 8	Solution *E*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	3,97 mL
*p*H 8	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	5,9 mL
*p*H 8,2	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	8,5 mL
*p*H 8,4	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	12 mL
*p*H 8,6	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	16,3 mL
*p*H 8,8	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL

	Solution *B*	21,3 mL
*p*H 9	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	26,7 mL
*p*H 9,2	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	32 mL
*p*H 9,4	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	36,85 mL
*p*H 9,6	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	40,8 mL
*p*H 9,8	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL
	Solution *B*	43,9 mL
*p*H 10	Solution *F*	50 mL
	eau ultra pure	*q.s.p.* 200 mL

Mode opératoire

La quantité exacte d'indicateur à utiliser dans l'essai dépend de l'indicateur, de l'importance de l'échantillon et de l'étalonnage adopté par le constructeur pour l'appareil comparateur. La notice d'utilisation de l'appareil employé fournira toutes les indications nécessaires sur les conditions de fonctionnement.

Remarques

Autres indicateurs colorés utilisables.

Indicateur Universel : il permet l'estimation directe du *p*H entre 1 et 10 (à l'unité près). Composé de plusieurs colorants en solution alcoolique, une des formules de préparation est la suivante :

phénolphtaléine	100 mg
rouge de méthyle	200 mg
diméthylaminoazobenzène	300 mg
bleu de bromothymol	400 mg
bleu de thymol	500 mg
alcool éthylique	500 mL

Ajouter quelques gouttes de solution d'hydroxyde de sodium pour obtenir la teinte jaune. Les *p*H sont donnés par les teintes de virage suivantes :

*p*H 2	rouge
*p*H 4	orange
*p*H 6	jaune
*p*H 8	vert
*p*H 10	bleu

Rouge de méthyle : il convient pour les mesures des eaux très acides dont le *p*H varie de 4,2 à 6,3.

L'indicateur est préparé par dissolution de 0,1 g de rouge de méthyle dans 300 mL d'alcool éthylique, en broyant au mortier ; la solution est complétée à 500 mL avec de l'eau ultra pure.

Le virage du rouge carmin au jaune orangé nécessite de la part de l'opérateur une observation attentive pour obtenir une mesure suffisamment précise.

Jaune d'alizarine R : surtout utilisé pour les mesures dans les eaux alcalines (chaudières) dont le *p*H varie de 10,1 à 12,1.

L'indicateur est préparé par dissolution de 0,1 g d'alizarine R dans 1 litre d'eau ultra pure, en broyant soigneusement.

Le virage du jaune au rouge orangé ne donne pas toujours une variation de teinte suffisante pour obtenir des mesures très précises. Le virage est rendu plus appréciable à l'œil et aux mesures, en ajoutant une goutte de bleu de méthylène ou d'un bleu stable. Il se fait alors du vert au violet.

■ Inconvénients de la méthode colorimétrique

– L'intensité de la coloration de certains indicateurs varie avec le temps à cause des réactions chimiques qui se produisent au sein de la solution, la rapidité de ce changement étant elle-même fonction du *p*H.

– La netteté du virage dépend de la nature de l'indicateur, le coefficient d'extinction variant lui-même avec la longueur d'onde de la lumière utilisée pour l'observation.

– La plupart des indicateurs sont inutilisables en présence de protéines, certains donnent même des erreurs en présence de produits de décomposition des protéines.

– Si l'eau contient des matières en suspension, procéder à une décantation, à l'abri de l'air et mesurer le *p*H sur le liquide clair, une filtration modifiant la valeur du *p*H.

– Il peut exister une erreur due à la salinité. En effet, la teinte de l'indicateur ne dépend pas seulement du *p*H, mais aussi de la nature du sel dissous et de sa concentration ; l'erreur croît avec une augmentation de cette dernière.

– Les dérivés chlorés peuvent détruire partiellement les indicateurs ou renforcer la teinte. Dans le premier cas, le *p*H est diminué, dans le second il est élevé.

5.3.2 Méthode potentiométrique avec électrode de verre

Cette méthode plus précise est celle couramment utilisée.

■ Principe

La différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence (calomel-KCl saturé) plongeant dans une même solution, est une fonction linéaire du *p*H de celle-ci. Selon l'expression de NERNST, le potentiel de l'électrode est lié à l'activité des ions H^+ présents par la relation

$$E = E_0 + 2{,}3\,\frac{RT}{nF}\,\log_{10} a_H$$

E = Potentiel mesuré (en Volt).

E_0 = Potentiel standard dépendant du choix de l'électrode de référence (en Volt).

R = Constante des gaz ($J.mol^{-1}.\ K^{-1}$).

T = Température absolue (K).

n = Nombre d'électrons mis en jeu dans l'équilibre ox/red.

F = Constante de Faraday (96 500 C).

a_H = Activité de l'ion H^+ dans l'échantillon.

☐ **Matériel spécial**

– Électrode de verre.

– Électrode de référence au calomel – chlorure de potassium saturé.

– Dispositif potentiométrique amplificateur spécialement construit pour la mesure du *p*H (*p*H-mètre).

☐ **Réactifs**

Les solutions sont préparées à partir des sels minéraux portant la mention « PUR pour détermination du *p*H ». Avant l'emploi, ces sels seront laissés pendant 2 heures dans une étuve à 110 °C, sauf pour le tétraborate de sodium qui est utilisé à l'état de décahydrate. L'eau ultra-pure entrant dans la composition des solutions sera rigoureusement exempte d'anhydride carbonique. Ces solutions sont à conserver dans des flacons en polyéthylène bien bouchés, elles doivent être rejetées lorsqu'elles présentent de la moisissure ou un dépôt. La durée de conservation peut être augmentée par addition d'un cristal de thymol.

– Solution d'hydrogénophtalate de potassium : *p*H 4,00 à 20 °C :

hydrogénophtalate de potassium		10,21 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

À conserver à l'abri de toute trace d'acide ou de base.

– Solution d'hydrogénophosphates : *p*H 6,88 à 20 °C :

dihydrogénophosphate de potassium		3,39 g
hydrogénophosphate de sodium		3,53 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de tétraborate de sodium : *p*H 9,22 à 20 °C :

tétraborate de sodium		3,80 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

■ Mode opératoire

Étalonnage de l'appareil

Dans le cas des appareils ne donnant pas de mesures directes, introduire successivement dans deux solutions étalons l'ensemble constitué par l'électrode de verre et l'électrode au calomel. Les valeurs correspondantes en millivolts lues sur l'appareil permettent de déterminer la droite liant le *p*H et la différence de potentiel.

Beaucoup d'appareils sont maintenant étalonnés directement en unités de *p*H. Ils comportent aussi un régulateur ou compensateur de température pour les mesures effectuées en dehors de 20 °C. Le réglage initial de ces appareils comporte un certain nombre d'opérations indiquées dans leur notice d'utilisation.

Mesures

– Pour les eaux non tamponnées ou susceptibles de se modifier au contact de l'air, les mesures s'effectuent à l'abri de l'air en utilisant un dispositif isolant l'électrode de verre de l'atmosphère ambiante.

L'eau à examiner sera amenée alors au contact de l'électrode par circulation.

Faire la lecture après stabilisation du *p*H.

– Pour les eaux suffisamment tamponnées, le *p*H peut être mesuré au contact de l'air. Il est nécessaire d'effectuer un certain nombre de mesures pour être assuré de la constance de la valeur obtenue.

– D'une façon générale si l'appareil ne comporte pas de correcteur de pente effectuer l'étalonnage avec une seule solution tampon d'un *p*H aussi voisin que celui de l'eau à analyser. Dans le cas contraire utiliser une solution tampon de *p*H 7 pour le réglage de normalisation puis une solution tampon d'un *p*H aussi voisin que celui de l'eau à analyser pour le réglage du correcteur de pente. Pratiquement, il y a toujours lieu de se reporter aux notices des appareils utilisés.

■ Expression des résultats

Les mesures sont exprimées en unités de *p*H, à la température de 20 °C.

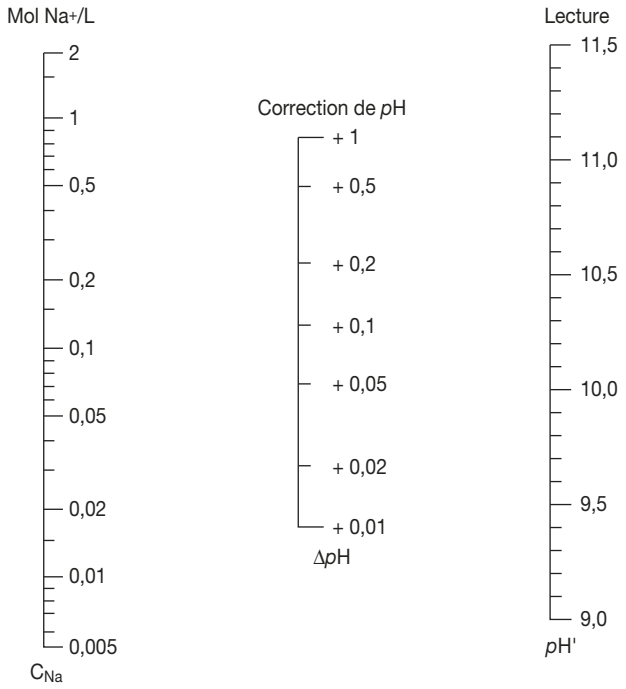
Remarques

– Il est recommandé de déterminer le *p*H des eaux *in situ*, de façon à ne pas modifier les équilibres ioniques par suite d'un transport ou d'un séjour plus ou moins prolongé des échantillons dans des flacons.

– Les électrodes de verre sont relativement fragiles et doivent être utilisées très propres. Aussi en dehors de l'usage, les conserver dans l'eau déionisée.

– Au-dessus de *p*H 9, les mesures sont entachées d'une erreur due à la présence des ions sodium dans la solution. Il suffira pour la corriger d'utiliser l'abaque indiquée ci-jointe. Il existe des électrodes spéciales qui évitent cette correction.

– Dans de bonnes conditions opératoires la précision peut être de ± 0,02 et la sensibilité de 0,05.



Correction des erreurs produites par l'ion sodium (20 °C) :
$pH = pH' + \Delta pH$

Exemple

Lecture du *p*H (*p*H′)	9,8
Concentration en ion Na^+ C_{Na}	0,4
Correction du *p*H	+ 0,1
*p*H corrigé	9,9

– Dans le cas d'eaux chaudes, utiliser la table de correction ci-jointe. En pratique la température des solutions tampons, des échantillons et des électrodes ne doit pas différer de plus de 1 °C. Le compensateur de température du *p*H-mètre est à régler sur la valeur de la température testée.

Variation du *p*H des solutions étalons en fonction de la température

Température (°C)	Hydrogénophtalate de potassium 0,05 *M*	Tampon aux phosphates 0,025 *M*	Tétraborate de sodium 0,01 *M*
0	4,00	6,98	9,46
5	4,00	6,95	9,39
10	4,00	6,92	9,33
15	4,00	6,90	9,28
20	4,00	6,88	9,22
25	4,01	6,86	9,18
30	4,01	6,85	9,14
35	4,02	6,84	9,10
40	4,03	6,84	9,07
45	4,05	6,83	9,04
50	4,06	6,83	9,01
55	4,08	6,83	8,99
60	4,09	6,84	8,96
70	4,13	6,85	8,92
80	4,16	6,86	8,88
90	4,21	6,88	8,85
95	4,23	6,89	8,83

Méthode de référence

NF T 90-008. Qualité de l'eau – Détermination du pH. Février 2001.

5.4 Potentiel d'oxydo-réduction

La réduction d'un oxydant en réducteur s'accompagne toujours d'un gain d'électrons par l'oxydant. Inversement, l'oxydation d'un réducteur en un oxydant s'accompagne toujours d'une perte d'électrons par le réducteur.

L'équilibre correspondant peut s'écrire :

$$aOx + ne \leftrightarrow bRed$$

avec une constante d'équilibre :

$$K^0 = (a_{Red})^{b}/(a_{Ox})^{a}.\ (a_e)^{n}$$

où a_x représente les activités des espèces à l'équilibre.

Par suite :

$$- n. \log a_e = n. p\varepsilon = \log K^0 + \log [(a_{Ox})^a/(a_{Red})^b]$$

avec $p\varepsilon$, potentiel d'électrons (équivalent à pH potentiel de protons).

Avec $(1/n). \log K = p\varepsilon^0$, l'équation devient :

$$p\varepsilon = p\varepsilon_0 + (1/n). \log [(a_{Ox})^a/(a_{Red})^b]$$

Par ailleurs la thermodynamique définit une relation entre la constante d'équilibre K^0 et le potentiel standard d'oxydo-réduction E^0

$$\text{Ln } K = nFE^0/RT$$

En remplaçant $p\varepsilon^0$ par $FE^0/(2,3.RT)$ et $p\varepsilon$ par $FE/(2,3.RT)$, l'équation précédente devient l'expression de NERNST

$$E = E^0 + (2,3.RT/nF). \log [(a_{Ox})^a/(a_{Red})^b]$$

$R = 8,314$ J. $mol^{-1}.K^{-1}$.

T : température (en K).

n : nombre d'électrons mis en jeu dans l'équilibre.

F : le Faraday (96 500 C).

Comme les potentiels standards d'oxydo-réduction sont toujours rapportés à la référence du potentiel standard nul du couple $H^+/H_{2\,(g)}$, les potentiels sont généralement symbolisés par E_H.

À 25 °C, l'équation de NERNST devient donc :

$$E_H = E^0_H + (0,059/n). \log [(a_{Ox})^a/(a_{Red})^b]$$

Remarque

Quand un nombre z d'ions H^+ interviennent dans l'équilibre Ox/Red (côté oxydant), ou d'ions OH^- (côté réducteur), il faut en tenir compte dans l'expression de NERNST, qui devient (par exemple à 25 °C) :

$$E_H = E^0_H + (0,059/n). \log [(a_{Ox})^a/(a_{Red})^b] - (0,059/n).z.pH$$

On peut donc calculer le potentiel d'oxydo-réduction d'une solution contenant des concentrations connues d'un couple oxydant/réducteur donné. Une eau pourra contenir toutefois de nombreux couples Ox/Red, dont principalement le couple O_2/H_2O ($E^0_H = 1,23$ V). La valeur de E_H dépendra donc principalement de la teneur en oxygène dissous. D'autres couples pourront intervenir sur la valeur de E_H, comme les couples Ox/Red de certains métaux (fer, manganèse) et la présence éventuelle de réactifs oxydants (chlore, ozone, etc.).

Principe

La mesure du potentiel d'oxydo-réduction est réalisée grâce à une cellule électrochimique constituée d'une électrode de mesure (platine) et d'une électrode de référence.

Quand l'électrode de référence est l'électrode standard à hydrogène (ESH, couple $H^+/H_{2\,(g)}$ avec $E^0_H = 0$) la mesure du potentiel lié au déplacement des électrons, donne la valeur de E_H.

Comme l'électrode de référence est très souvent l'électrode dite « au calomel » ($Hg_{(l)}/Hg_2Cl_2$, KCl-4,6 M, E^0_H = 0,244 volts à 25 °C), la valeur du potentiel mesuré est :

$$E_{cal} = E_H - 0{,}244$$

Les capteurs redox utilisés pour les analyses environnementales peuvent encore utiliser des électrodes de référence à l'argent-chlorure d'argent (Ag/AgCl) constituées par un fil d'argent plongeant dans une solution d'ions chlorures (AgCl saturé + KCl 3M). Par rapport à l'électrode normale à hydrogène, son potentiel est de 0,199 volts à 25 °C.

La mesure du potentiel d'oxydo-réduction peut être utile pour évaluer l'état d'une ressource en eau naturelle, ainsi que pour le traitement des eaux (ex. : déferrisation et démanganisation des eaux souterraines) ou encore en épuration biologique des eaux usées (ex. : par boues activées).

☐ Matériel spécial

Dispositif potentiométrique : la majorité des pHmètres/millivoltmètres conviennent pour cette détermination

Pour les électrodes de mesure, on pourra utiliser :

– 2 électrodes séparées : électrode de référence (calomel ou Ag/AgCl) et électrode de mesure métallique, généralement constituée d'un fil de platine,

– une électrode métallique combinée, intégrant un système de référence (calomel ou Ag/AgCl) et un élément sensible (électrode de mesure) souvent constitué d'un anneau de platine.

☐ Réactifs

La solution électrolytique des électrodes doit être rechargée régulièrement, voire même renouvelée, en suivant les instructions du fabricant d'électrodes.

Les solutions électrolytiques sont généralement les suivantes :

– une solution saturée de KCl pour l'électrode au calomel saturé,

– un mélange KCl 3M/AgCl saturé pour l'électrode Ag/AgCl.

Solutions de calibration

Des solutions tamponnées de quihydrone pour l'étalonnage de l'appareil sont disponibles dans le commerce.

L'étalonnage de l'appareil peut également être réalisé en utilisant l'une des solutions ci-dessous :

– Solution A :

Sulfate de fer (II) et d'ammonium $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2,6H_2O$		39,21 g
Sulfate de fer (III) et d'ammonium $Fe(NH_4)(SO_4)_2,12H_2O$		48,22 g
Acide sulfurique concentré (d = 1,84)		56,2 mL
Eau déionisée	q.s.p	1 000 mL

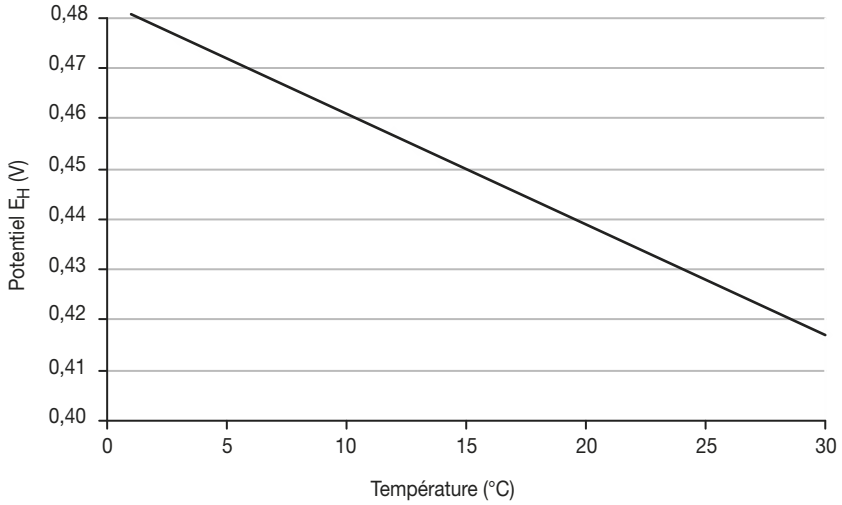
– Solution B :

Potassium ferrocyanure $K_4Fe(CN)_6,3H_2O$		1,4080 g
Potassium ferricyanure $K_3Fe(CN)_6$		1,0975 g
Potassium chlorure KCl		7,4555 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Potentiel d'une électrode de platine par rapport aux électrodes de référence à 25 °C (mV)

Solution	Électrode standard à hydrogène	Électrode au calomel (KCl saturé)	Électrode Ag/AgCl *Électrolyte*	
			KCl 4 M	KCl saturé
Solution A	675	431	475	476
Solution B	428	184	228	229

Le potentiel mesuré est fortement influencé par la température (cf. loi de NERNST), comme l'illustre la figure ci-dessous dans le cas de la solution standard B, le potentiel indiqué étant mesuré par rapport à l'électrode standard à hydrogène (E_H).



Mode opératoire

Le potentiel redox étant influencé par les variations de la teneur en oxygène dans le milieu, la mesure s'effectuera de préférence in situ en plongeant les électrodes (ou l'électrode combinée) dans l'échantillon. Après stabilisation de la lecture, on notera le potentiel mesuré ainsi que la température de mesure.

Le résultat sera exprimé en millivolts (mV) en précisant le système de référence choisi (calomel ou Ag/Ag/Cl) ou mieux encore en le calculant par rapport à l'électrode normale à hydrogène (voir ci-dessus § principe).

Un étalonnage n'est pas toujours nécessaire, mais il est souvent préférable de contrôler le matériel avec des solutions de potentiel connu. Les fabricants proposent généralement des solutions tamponnées de quinhydrone. (pH 4 ou pH 7).

Remarques

Des dépôts sur les électrodes peuvent provoquer des lectures erronées. Des nettoyages réguliers seront réalisés selon les préconisations du fournisseur. Un nettoyage avec des acides minéraux dilués est généralement préconisé : pour les impuretés organiques ou des graisses, on pourra utiliser les détergents de laboratoire.

Commercialisée sous forme d'une poudre, la quinhydrone est un mélange équimolaire de benzoquinone ($C_6H_4O_2$, noté Q) et d'hydroquinone ($C_6H_4O_2H_2$, noté QH_2), qui se dissocie en solution aqueuse :

$$Q + 2\,H^+ + 2\,e \leftrightarrows QH_2$$

équation qui correspond à un système redox :

$$Ox + 2\,H^+ + 2\,e \leftrightarrows Red$$

où l'acidité de la solution détermine la valeur du potentiel d'équilibre.

5.5 rH

L'indice rH est défini comme étant le cologarithme de la pression partielle en hydrogène, -log p_{H2}.

En effet, la relation de NERNST pour le couple H^+/H_2 s'écrit :

$$E_H = E^0_H + (0{,}059/2).\ \log\,[(a_H)^2/p_{H2}]$$

avec $E^0_H = 0$ et $\log\,(a_H)^2 = -\,2$ pH.

L'indice rH peut être alors calculé par :

$$rH = [E_H/0{,}029] + 2\ pH$$

L'indice rH est souvent utilisé pour définir les limites de la déferrisation biologique des eaux souterraines.

Remarque

On définit également le rO_2 qui correspond au cologarithme de la pression partielle en oxygène.

5.6 Acidité

L'acidité d'une eau résulte de la présence de dioxyde de carbone dissous (CO_2 libre) et/ou d'acides forts libres. La présence d'acides forts libres se caractérise par un pH de l'eau inférieur à 4,5 – 4,3. Le dioxyde de carbone dissous est toujours présent dans les eaux naturelles (voir chapitre sur les équilibres calcocarboniques) à des concentrations variables selon l'origine géologique ou environnementale de l'eau. La présence de dioxyde de carbone libre à une concentration mesurable se caractérise généralement par un pH compris entre 4,5 et 8,3. La mesure préalable du pH de l'eau permet de savoir si celle-ci contient ou non des acides forts libres ou si elle ne contient que du dioxyde de carbone.

Dans la suite de ce sous-chapitre on traitera séparément le dosage de l'acidité forte de celui du dioxyde de carbone.

5.6.1 Acidité forte

Le dosage de l'acidité forte appelé aussi « titre en acides forts » (TAF) concerne principalement les eaux ou les rejets industriels. En effet, les eaux naturelles présentant une acidité liée à la présence d'acides forts sont très rares et ne sont constatées que dans des zones volcaniques qui sont le siège d'émissions de fumeroles composées de dioxyde de soufre (SO_2) qui s'oxyde en présence de bactéries du soufre aérobies (lacs du volcan Shirane au Japon ou du volcan Kawa Ijen en Indonésie par exemple). Dans certaines régions fortement industrialisées, les émissions de SO_2 dans l'air par les fumées des usines, peuvent conduire à la formation de pluies acides dont le pH est inférieur à 4. Mais dès que l'eau de pluie entre en contact avec un sol calcaire, l'acide sulfurique libre est rapidement neutralisé par réaction avec le carbonate de calcium du sol.

Lorsque les eaux acides sont en contact avec l'atmosphère leur concentration en CO_2 libre est généralement très faible (de l'ordre de 0,5 ou 1 mg. L^{-1}), de sorte que l'acidité forte est souvent équivalente à l'acidité totale.

L'eau à analyser doit être conservée de préférence dans des flacons en polyéthylène ou en verre borosilicaté et l'analyse doit être pratiquée dans les 24 heures après le prélèvement qui sera conservé à 4 °C.

■ Principe du dosage

Le dosage consiste à neutraliser les acides forts par une base forte telle que l'hydroxyde de sodium. La fin du dosage est détectée par virage d'un indicateur coloré ou par mesure du pH. Si l'eau contient des acides forts libres et du CO_2 libre, on utilisera le méthylorange (virage à pH 4,5) et la phénolphtaléine (virage à pH 8,3). Si l'eau ne contient pas de CO_2 libre (ou si sa concentration est très faible), on pourra utiliser un seul indicateur tel que le bleu de bromothymol dont le pH de virage est voisin de 7.

☐ Réactifs

– Solution saturée d'hydroxyde de sodium exempte de carbonate :

Hydroxyde de sodium	550 g
Eau déionisée	500 cm^3

Laisser au repos dans un flacon hermétiquement clos ceci afin que le carbonate se décante complètement. Siphonner la partie surnageante et titrer avec un acide minéral de normalité connue.

– Solution d'hydroxyde de sodium 0,02 N :

Un volume calculé de la solution précédente est amené à 1 litre à l'aide d'eau déionisée fraîchement bouillie et exempte d'anhydride carbonique.

Cette solution se conserve en flacon de polyéthylène à l'abri de l'anhydride carbonique de l'air et doit être renouvelée chaque semaine.

– Solution alcoolique de phénolphtaléine à 0,5 % :

Phénolphtaléine	5 g
Alcool éthylique	500 cm^3
Eau déionisée	500 cm^3
Solution d'hydroxyde de sodium 0,02 N	q.s.p. l'apparition d'une faible coloration rose.

– Solution de méthylorange à 0,5 % :

Méthylorange		0,5 g
Eau déionisée	q.s.p.	100 cm^3

– Solution de bromothymol à 0,5 % :

Bleu de bromothymol		0,5 g
Eau déionisée	q.s.p.	100 cm^3

■ Mode opératoire

– Acidité totale :

Prélever dans une fiole conique, 100 ml d'eau à analyser. Ajouter 3 gouttes de solution de phénolphtaléine. Titrer sur fond blanc avec la solution étalon d'hydroxyde de sodium 0,02 N jusqu'à apparition d'une faible coloration rose caractéristique du virage à pH 8,3.

Soit X_1 le volume de solution d'hydroxyde de sodium versé.

– Acidité en acides forts (TAF) :

Prélever dans une fiole conique 100 ml d'eau à analyser et ajouter 2 gouttes de solution de méthylorange. Titrer sur fond blanc avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,02 N jusqu'à virage du jaune au jaune orangé (pH 4,5). Soit X_2 le volume de solution d'hydroxyde de sodium versé.

■ Expression des résultats

– Acidité totale :

$X_1/5$ exprime l'acidité totale en milliéquivalents par litre.

– Acidité en acides minéraux (TAF) :

$X_2/5$ exprime l'acidité en acides minéraux en milliéquivalents par litre.

X_2 exprime l'acidité en acides forts en degrés français.

Remarques

– Si X_1 et X_2 sont identiques à 0,1 cm^3 près, on peut conclure que la concentration en CO_2 libre est voisine de la concentration d'équilibre avec l'atmosphère (inférieure à 1 mg. L^{-1}). On peut alors vérifier la mesure de l'acidité en acide fort en recommençant le dosage. On utilisera alors le bleu de bromothymol comme indicateur à raison de 3 gouttes de solution à 0,5 %.

– Éliminer le chlore résiduel libre si l'eau en contient, en ajoutant 1 goutte de solution de thiosulfate de sodium 0,1 N ou au moyen de rayonnements ultraviolets.

– Les appareils de titrage automatique, associés à un pH-mètre, peuvent être utilisés pour les dosages.

5.6.2 Dioxyde de carbone dissous (CO_2 libre)

Les eaux dont le pH est compris entre 4,5 et 8,3 contiennent le plus souvent du dioxyde de carbone à une concentration non négligeable et donc mesurable. Le dioxyde de carbone est en équilibre avec les ions hydrogénocarbonate comme indiqué au chapitre consacré aux équilibres calcocarboniques. La connaissance de la concentration du CO_2 libre est souhaitable pour effectuer les calculs des conditions d'équilibre calcocar-

bonique. Toutefois, compte tenu des risques d'erreur liés à cette mesure, une détermination attentive et soignée du pH, réalisée sur le site de prélèvement peut dans bien des cas, être préférable. La concentration du CO_2 libre pourra ensuite être calculée soit à l'aide d'abaques soit par voie informatique.

Principe du dosage

Le dosage du CO_2 libre consiste à neutraliser la première fonction de cet acide pour former des ions hydrogénocarbonate à l'aide d'une solution titrée de carbonate de sodium ou de soude selon les réactions suivantes :

$$H_2CO_3 + CO_3^{2-} \rightarrow 2HCO_3^-$$

$$H_2CO_3 + OH^- \rightarrow HCO_3^- + H_2O$$

Cette réaction est complète lorsque le pH final est voisin de 8,3.

En effet, la valeur du CO_2 libre est en toute rigueur donnée par l'expression :

$$CO_2 libre = [H_2CO_3] + [H_3O^+] - [CO_3^{2-}] - [OH^-]$$

Cette expression s'annule lorsque :

$$[H_2CO_3] + [H_3O^+] = [CO_3^{2-}] + [OH^-]$$

$[H_3O^+]$ et $[OH^-]$ étant négligeables lorsque le pH est voisin de 7 ou 8, l'expression devient :

$$[H_2CO_3] = [CO_3^{2-}]$$

Cette condition est obtenue lorsque $pH = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$

Dans cette expression pK_1 et pK_2 sont les cologarithmes des deux constantes de dissociation de l'acide carbonique et sont égaux respectivement à 6,3 et 10,2 à 25 °C (voir chapitre sur les équilibres calcocarboniques)

On utilise généralement la phénolphtaléine comme indicateur de fin de dosage qui passe de l'incolore au rose violet au voisinage de pH 8,3.

Deux méthodes sont proposées dans la norme française : le dosage direct ou le dosage en retour. Compte tenu des risques de perte de CO_2 pendant la mesure, il est recommandé de n'utiliser la méthode directe que si l'eau ne contient que très peu de CO_2 libre (moins de 10 mg. L^{-1}).

Quelle que soit la méthode choisie, il est impératif de réaliser cette mesure sur le site de prélèvement et immédiatement après la prise d'échantillon. En effet lors du transport de l'échantillon, l'eau peut échanger du CO_2 avec l'atmosphère et peut, dans la plupart des cas, en perdre même si l'échantillon est placé dans un flacon totalement rempli d'eau et donc sans bulle.

D'autre part, l'élévation du pH de l'eau résultant de l'ajout de soude ou de carbonate de sodium et l'accroissement concomitant de la concentration en carbonate entraînent un déplacement des équilibres calcocarboniques conduisant à la précipitation de carbonate de calcium. Cette précipitation

s'accompagne d'une augmentation de la concentration en CO_2 libre de l'eau selon la réaction :

$$2HCO_3^- + Ca^{2+} \rightarrow CaCO_3 + H_2CO_3$$

Pour réduire les risques d'erreur liée à cette précipitation, on devra réduire la concentration en calcium ou masquer cet ion :

– soit en introduisant dans l'échantillon des résines échangeuses d'ions (sous forme sodique) qui échangeront le calcium pour du sodium

– soit en ajoutant à l'échantillon une solution de tartrate de sodium et de potassium qui complexera le calcium pendant la durée du dosage.

Ainsi les résultats du dosage ne seront interprétables que si l'on prend un certain nombre de précautions pendant le prélèvement pour limiter les risques de perte de CO_2 et si l'on effectue un prétraitement apte à réduire les risques de précipitation de carbonate de calcium.

☐ **Réactifs**

– Solution d'hydroxyde de sodium environ 0,025 N (pour le dosage direct) (solution I).

– Solution de tartrate de sodium et de potassium (pour le dosage direct) :

Tartrate double de sodium et de potassium		66 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 cm^3

– Solution d'hydroxyde de sodium environ 0,025 N et de tartrate (pour le dosage en retour) (solution II) :

Tartrate double de sodium et de potassium		66 g
Solution d'hydroxyde de sodium 0,05 N		500 cm^3
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 cm^3

– Solution alcoolique de phénolphtaléine à 1 %.

– Solution d'acide chlorhydrique 0,1 N.

– Résines cationiques sodiques :

On peut utiliser des résines cationiques en phase sodique telles que celles qui sont mises en œuvre dans les adoucisseurs. Les résines doivent être préalablement régénérées en les disposant dans une colonne en verre ou en plastique et en faisant percoler une solution saturée de chlorure de sodium. Elles sont ensuite rincées par passage d'eau déionisée afin d'éliminer l'excès de chlorure de sodium. Elles seront ensuite stockées humides dans un flacon en polyéthylène.

■ Mode opératoire

Prélèvement

Le dosage étant réalisé dans une éprouvette graduée munie d'un bouchon (éprouvette en verre et bouchée avec un bouchon rodé ou éprouvette en plastique muni d'un bouchon), le prélèvement sera directement effectué dans cette éprouvette.

Sur un plan d'eau libre (lac, rivière, bassin…) plonger l'éprouvette graduée de 250 cm^3 dans l'eau en veillant à limiter la formation de remous ou de bulles afin de réduire les pertes de CO_2. Remplir l'éprouvette jusqu'à environ 200 cm^3 et noter le volume exact (X).

À un robinet qui sera muni préalablement d'un tube en plastique souple, disposer rapidement l'éprouvette graduée sous le robinet de manière à ce

que le tube plonge jusqu'au fond de celle-ci. Laisser couler l'eau jusqu'à ce que le volume de l'éprouvette ait été renouvelé environ trois fois. Puis retirer l'éprouvette et ajuster grossièrement le volume à 200 cm^3 et noter le volume exact (X).

Dosage direct

Introduire 10 cm^3 de la solution de tartrate double de sodium et de potassium dans l'échantillon disposé dans l'éprouvette graduée ou environ 20 cm^3 de résines cationiques, puis 6 à 8 gouttes de la solution de phénolphtaléine et obturer l'éprouvette. Agiter en retournant doucement l'éprouvette.

Introduire ensuite à l'aide d'une burette graduée la solution d'hydroxyde de sodium (solution I). Après chaque ajout refermer l'éprouvette et agiter en retournant doucement l'éprouvette. Répéter l'opération jusqu'à ce que la coloration rose apparaisse dans tout le volume de l'échantillon. Soit V_1 le volume d'hydroxyde de sodium introduit.

Vérifier la concentration de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée en ajoutant à l'échantillon après la première mesure, 10 cm^3 de la solution d'acide chlorhydrique 0,1 N et procéder de nouveau au dosage jusqu'à l'apparition de la coloration rose. Soit V_2 le volume de solution d'hydroxyde de sodium introduit.

Dosage en retour

Introduire un volume V = 10 cm^3 de solution d'hydroxyde de sodium 0,025 N et de tartrate (solution II) dans l'échantillon d'eau disposé dans l'éprouvette graduée. Si l'eau contient plus de 50 mg de CO_2 par litre, doubler cette quantité (V = 20 cm^3). Ajouter 6 à 8 gouttes de la solution de phénolphtaléine et obturer l'éprouvette graduée et reboucher. Homogénéiser en retournant lentement l'éprouvette. La solution doit prendre une teinte rose. Dans le cas contraire opérer avec une quantité d'hydroxyde de sodium plus grande (V = n.10 cm^3).

Titrer alors à l'acide chlorhydrique 0,1 N jusqu'à décoloration. Soit V1 le volume d'acide 0,1 N introduit. Faire un essai à blanc en ajoutant à l'échantillon précédent, le même volume (V) de solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate que celui utilisé pour le dosage. Soit V2 le volume d'acide 0,1 N utilisé

– Méthode alternative

On peut aussi réaliser le dosage en remplaçant l'ajout de 10 cm3 de solution de tartrate double de sodium et de potassium par une introduction de 20 cm^3 de résines cationiques sodiques dans l'échantillon. Les ions calcium ayant été remplacés par des ions sodium, la précipitation de carbonate de calcium est alors très peu probable pendant tout le temps nécessaire au dosage. On réalisera alors le dosage comme précédemment en utilisant la solution d'hydroxyde de sodium 0,025 N (solution I)

Expression des résultats

Dosage direct

La concentration (C) de la solution d'hydroxyde de sodium est donnée par le deuxième dosage :

$$C = 0{,}1.\frac{V_2}{10} = \frac{V_2}{100}$$

Le nombre (N) de milliéquivalents de CO_2 libre présents dans l'échantillon est :

$$N = C.V_1 = \frac{V_1.V_2}{100}$$

La masse moléculaire de CO_2 étant 44 et le volume de l'échantillon étant de X cm^3, la concentration en CO_2 libre de l'eau analysée est, en milligrammes. L^{-1} :

$$C_{CO_2 libre} = 44.N.\frac{1000}{X} = 44.\frac{V_1.V_2}{100}.\frac{1000}{X} = 440\,\frac{V_1.V_2}{X}$$

V_1, V_2 et X étant exprimés en cm^3.

Dosage en retour

Calculer la différence $V_2 - V_1 = A$.

La concentration de la solution d'acide chlorhydrique étant 0,1 N, 1 cm^3 de cette solution correspond à 0,1 milliéquivalent. Ainsi, dans l'échantillon le nombre N de milliéquivalent de CO_2 libre est égal à :

$$N = \frac{A}{10}$$

La masse moléculaire de CO_2 étant 44 et le volume de l'échantillon étant de X cm^3, la concentration en CO_2 libre de l'eau analysée est, en milligrammes. L^{-1} :

$$C_{CO_2 libre} = 44.N.\frac{1000}{X} = 4400\,\frac{A}{X}$$

A et X sont exprimés en cm^3.

Remarques

– La précision de ce dosage est de l'ordre de 1 mg. L^{-1}.

– Un pH-mètre, associé ou non à un appareil de titrage automatique, peut être utilisé pour le dosage (pH 8,3).

– Un début de précipitation de $CaCO_3$ peut parfois avoir lieu lors de l'ajout de la solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate avant que le calcium ne soit complexé, en raison de la forte basicité de cette solution. L'utilisation de résines cationiques telle qu'indiquée comme méthode alternative est conseillée pour le dosage du CO_2 libre dans les eaux dures.

– En présence d'une quantité notable de produits ammoniacaux, la phénolphtaléine se transforme en diimidophtaléine dont la solution alcaline est incolore.

– La norme française ne prévoit pas l'utilisation d'un complexant ou de résines permettant de masquer ou d'éliminer le calcium. Elle prévoit d'autre part l'utilisation de carbonate de sodium pour le dosage. L'ajout de carbonate à une eau contenant du calcium entraîne une précipitation de $CaCO_3$ importante qui fausse le résultat.

Méthode de référence

NF T 90-011 (Février 2001). Qualité de l'eau – Dosage du dioxyde de carbone dissous.

5.7 Alcalinité (TA-TAC)

À l'inverse de l'acidité, l'alcalinité d'une eau correspond à la présence de bases et de sels d'acides faibles. Dans les eaux naturelles, l'alcalinité résulte le plus généralement à la présence d'hydrogénocarbonates, carbonates et hydroxydes.

D'autres sels d'acides faibles peuvent aussi être dosés et interfèrent dans la mesure : acides humiques, phosphates, citrates, tartrates… La silice ionique peut aussi interférer notamment lorsque le pH est supérieur à 8,5.

On distingue comme pour la mesure de l'acidité, deux titres qui sont le titre alcalimétrique ou titre alcalimétrique simple (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC).

L'unité utilisée est le degré français (1°f = 10 mg. L^{-1} de $CaCO_3$ = 0,2 milliéquivalent. L^{-1}) (*).

On trouve parfois des ouvrages qui mentionnent l'alcalinité exprimée en mg. L^{-1} de CaO.

Dans les pays anglo-saxons l'alcalinité (notée Alk) est exprimée en mg. L^{-1} de $CaCO_3$.

Le TA et le TAC étant mesurés successivement sur un même échantillon, les deux méthodes de dosage seront présentées en même temps.

Il convient tout d'abord de préciser les conditions et la signification de ces mesures.

5.7.1 Titre alcalimétrique simple (TA)

En l'absence de sels interférents tels que ceux indiqués ci-dessus, le TA correspond à la somme :

$$TA = [CO_3^{2-}] + [OH^-] - [H_2CO_3] - [H_3O^+]$$

Le TA correspond donc à la somme des concentrations des ions carbonates (CO_3^{2-}) et des ions hydroxydes (OH^-). Mais, à partir du seul résultat de la mesure, il n'est pas possible de différencier la part du TA qui corres-

* Par le passé, avant la généralisation de l'emploi des milliéquivalents, on exprimait les concentrations de certains ions en degrés français et notamment celles des ions chlorure ou sulfate. En l'absence de lien avec le $CaCO_3$, le seul intérêt de ces expressions était l'homogénéité des unités qui permettait d'en faire facilement la somme ou de les comparer.

pond aux carbonates de celle qui correspond à la concentration en ions hydroxyde. Pour évaluer précisément ces concentrations, on doit recourir à des calculs quelque peu rebutants utilisant d'autres données telles que le pH et le TAC. On verra au chapitre consacré aux équilibres calcocarboniques que ces calculs peuvent être effectués par voie informatique et sont alors rigoureux. Ainsi la mesure du TA ne présente qu'un intérêt limité.

Comme pour le dosage du CO_2 libre le TA s'annule lorsque :

$$[CO_3^{2-}] + [OH^-] = [H_2CO_3] + [H_3O^+]$$

Le pH de fin de dosage varie d'environ 7 à 8,3, en fonction de la concentration de Carbone Minéral Total – CMT (voir chapitre sur les équilibres calcocarboniques), mais dans la plupart des cas le pH de virage est voisin de 8,3. Ainsi les eaux présentant un pH inférieur à 8,3 ont un TA qui est nul.

5.7.2 Titre alcalimétrique complet (TAC)

Le TAC correspond à la somme :

$$TAC = [HCO_3^-] + 2\,[CO_3^{2-}] + [OH^-] - [H_3O^+]$$

Il s'annule en toute rigueur lorsque :

$$[HCO_3^-] + 2\,[CO_3^{2-}] + [OH^-] = [H_3O^+]$$

Dans ces conditions $[CO_3^{2-}]$ et $[OH^-]$ sont le plus souvent négligeables devant $[HCO_3^-]$ pour autant que l'eau contienne du CO_2 dissous et l'expression peut se simplifier à l'égalité :

$$[HCO_3^-] = [H_3O^+]$$

Or, de la relation de première dissociation de l'acide carbonique ci-après,

$$K_1' = \frac{[H_3O^+] \cdot [HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

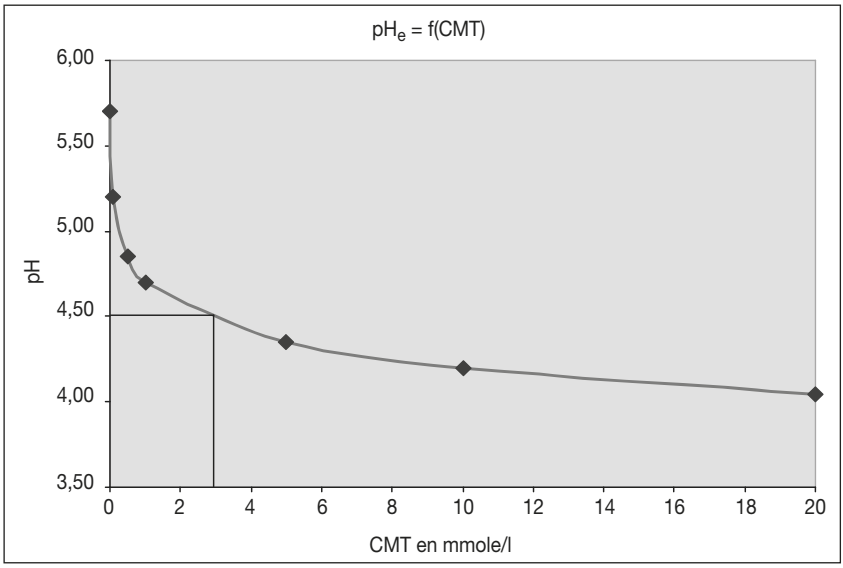
On peut en déduire :

$$[H_3O^+]^2 = K_1' . [H_2CO_3]$$

Ou encore

$$pH = \frac{1}{2}(pK_1' - \log\,[H_2CO_3])$$

Ainsi, le pH de virage du dosage du TAC varie en fonction de la concentration de l'eau en CMT comme le montre la figure « Évolution du pH de virage du TAC en fonction de la concentration en carbone minéral total ».



Évolution du pH de virage du TAC en fonction de la concentration en carbone minéral total

On peut voir sur la figure ci-dessus que l'hélianthine dont le pH de virage est approximativement de 4,5 est adaptée pour la mesure du TAC des eaux présentant un carbone minéral total de l'ordre de 5 millimoles. L^{-1}, ce qui peut être le cas d'eaux fortement minéralisées, mais est inadaptée pour des eaux peu minéralisées. On utilisera donc un mélange de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle dont le pH de virage est voisin de 4,5. On peut corriger la valeur du TAC par le calcul informatique (logiciel LPLWin notamment) car il convient de tenir compte de cette source d'erreur pour le calcul de la balance ionique.

Enfin, la détermination des concentrations des ions hydrogénocarbonate, carbonate et hydroxyde, à partir des résultats de mesures du TAC et du pH, sera efficacement réalisée par voie informatique (cf. chapitre relatif aux équilibres calcocarboniques). Les divers abaques disponibles dans la littérature étant établis avec des valeurs des constantes de dissociation moyennes, ne peuvent donner qu'une évaluation approximative.

5.7.3 Méthode titrimétrique de dosage du TA et du TAC

L'eau à analyser doit être conservée de préférence dans des récipients en polyéthylène ou en verre borosilicaté et l'analyse doit être pratiquée dans les 24 heures après le prélèvement.

■ Principe

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré.

☐ **Réactifs**

– Acide chlorhydrique ou sulfurique 0,02 N.
– Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0,5 % (voir acidité).
– Solution de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle :

Vert de bromocrésol		0,2 g
Rouge de méthyle		0,015 g
Éthanol à 90 %	q.s.p.	100 cm^3

– Eau déionisée exempte d'anhydride carbonique libre (par ébullition de 15 min).

Mode opératoire

Détermination du TA

Prélever 100 ml d'eau à analyser dans une fiole conique. Ajouter 1 à 2 gouttes de solution alcoolique de phénol phtaléine. Une coloration rose doit alors se développer. Dans le cas contraire le TA est nul, (pH < 8,3) Verser ensuite doucement l'acide dans la fiole à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution (pH 8,3).

Soit V le volume d'acide utilisé pour obtenir le virage.

Détermination du TAC

Utiliser l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif s'il n'y a pas eu de coloration. Ajouter 2 gouttes de solution de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle et titrer de nouveau avec le même acide jusqu'à disparition de la coloration bleu verdâtre et apparition de la couleur rose (pH 4,5). Le dosage doit être effectué rapidement pour réduire les pertes de CO_2 qui pourraient entraîner une élévation du pH de virage (voir ci-dessus). Soit V' le volume d'acide 0,02 N versé depuis le début du dosage.

Expression des résultats

1) TA :

– $\frac{V}{5}$ exprime le titre alcalimétrique (TA) en milliéquivalents par litre.

– V exprime le titre alcalimétrique en degrés français (1° f correspond à 10 mg de carbonate de calcium ou à 0,2 mEq/l).

2) TAC :

– $\frac{V'}{5}$ exprime le titre alcalimétrique complet (TAC) en milliéquivalents par litre.

– V' exprime le titre alcalimétrique complet en degrés français.

Remarques

– La présence d'acides faibles ou de leurs sels peut interférer (acides humiques, phosphates, citrates, tartrates…). La silice ionique peut aussi interférer notamment lorsque le pH est supérieur à 8,5.

– La présence d'une quantité importante de phosphates peut rendre la lecture du virage à la phénolphtaléine un peu délicate. Les interférences liées à des teneurs élevées de carbonates ou de phosphates peuvent être réduites par l'addition en excès de chlorure de strontium à 4,5 g/l.

– Éliminer le chlore résiduel libre si l'eau en contient, en ajoutant une goutte de solution de thiosulfate de sodium 0,1 N ou par exposition de l'échantillon aux rayonnements ultraviolets.

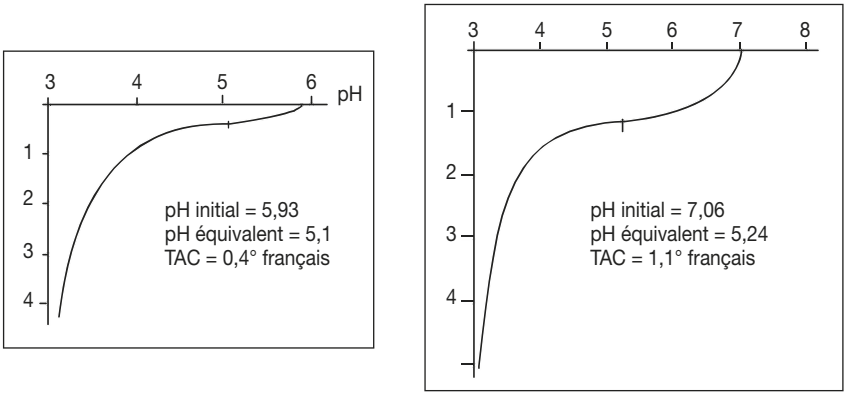
– Les indicateurs colorés peuvent être remplacés par l'utilisation d'un pH-mètre notamment lorsque l'eau est turbide ou colorée.

– Le TAC dans beaucoup d'eaux de pH inférieur à 8 se confond en première approximation avec la concentration [HCO_3^-], (6 < pH < 8).

5.7.4 Méthode pH-métrique au point équivalent

Une variante de la méthode titrimétrique consiste à utiliser un automate qui délivre la solution d'acide en continu. Un pH-mètre enregistreur suit les variations de pH de l'échantillon d'eau au cours du dosage. L'automate trace la courbe de pH et détecte le point de virage.

Cette méthode permet de mesurer exactement le TA et le TAC. La figure « exemples de courbes de titrage » montre deux exemples de courbes obtenues avec des eaux présentant un faible TAC. Les pH des points équivalents sont plus élevés de celui qui est fixé par de la norme européenne (4,5). Les erreurs qui résulteraient du dosage à pH 4,5 sont très importantes en valeur relative et conduisent à un déséquilibre de la balance ionique.



Exemples de courbes de titrage avec suivi du pH

■ Mode opératoire et expression des résultats

Comme pour toute méthode instrumentale, le mode opératoire est très étroitement lié au matériel dont on dispose ; se reporter à la notice de l'appareil qui précise le volume de l'échantillon analysé et qui indique le système d'unité dans lequel les résultats sont fournis.

5.7.5 Méthode potentiométrique

Mode opératoire

Comme pour toute méthode instrumentale, le mode opératoire est très étroitement lié au matériel dont on dispose ; se reporter à la notice de l'appareil.

Amener 100 à 200 mL d'eau à analyser jusqu'à pH 4,5. Soit V_1 le volume d'acide utilisé. Continuer le titrage jusqu'à pH 4,2. Soit V_2 le volume total d'acide employé.

Expression des résultats

Au-delà du point équivalent, la courbe de titrage (concentration en ions hydrogène en fonction du volume d'acide utilisé) est une droite. L'extrapolation de cette portion rectiligne jusqu'à une concentration nulle (X_o) permet de déterminer sur la courbe le point *P* ou point équivalent, c'est-à-dire l'alcalinité totale. Pour préciser ce point, prendre un point *A* (X_1, Y_1) correspondant à une concentration Y_1 en ions H_3O^+, c'est-à-dire au pH Z_1 puis un point D (X_2, Y_2) tel que :

$$Y_2 = 2.Y_1.\ (\text{pH } Z_2)$$

Si $Y_1 = 316.10^{-7}$ (pH 4,5), la concentration Y_2 du point D sera de 631.10^{-7} (pH 4,2). On aura donc :

$$X_0 = X_1 - (X_2 - X_1)$$

$$X_0 = 2X_1 - X_2,$$

X_0 = Volume d'acide correspondant au point équivalent.

X_1 = Volume d'acide correspondant au pH 4,5.

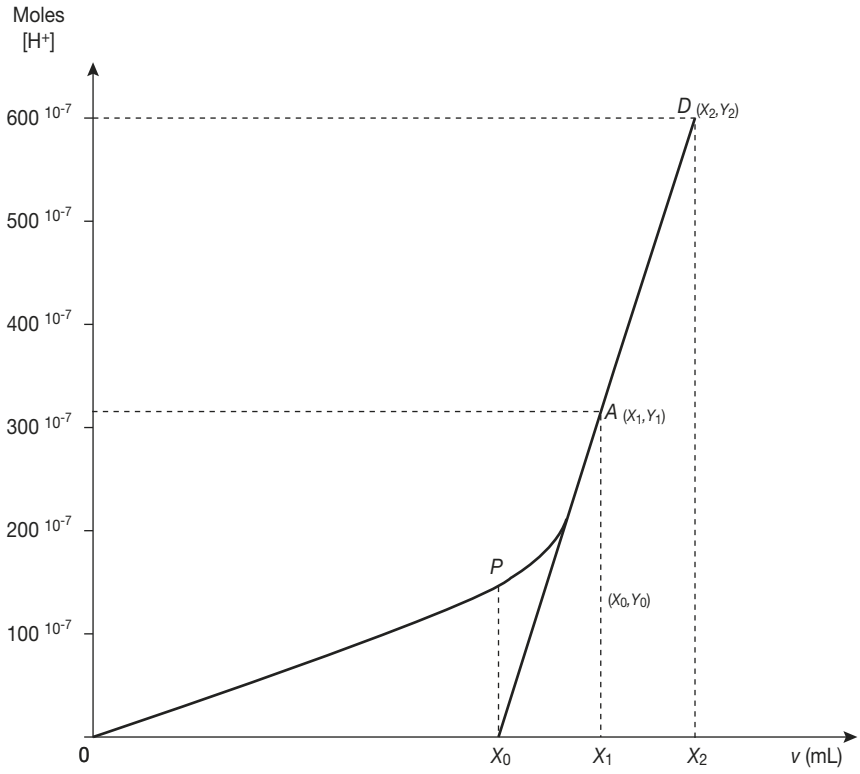
X_2 = Volume d'acide correspondant au pH 4,2.

Par suite, l'alcalinité exprimée en milliéquivalents par litre d'eau, est égale à :

$$TAC = \frac{(2V_1 - V_2).N.1000}{v}$$

N = Titre de l'acide.

v = Volume de l'échantillon (cm^3).



Courbe de titrage

> **Remarque**
> Cette méthode, comme la méthode pH-métrique, est recommandée lorsque l'alcalinité totale est inférieure à 5°f, car elle permet d'éliminer l'erreur pouvant être due à la perte d'anhydride carbonique pendant le dosage.

5.7.6 Méthode par flux continu

Cette méthode automatisée s'applique aux eaux dont le TAC est inférieur à 50 °f et dont le pH est supérieur à 3,1.

■ Principe

L'hélianthine est utilisée comme indicateur de coloration dans un tampon à pH 3,1 juste en dessous du point équivalent de sorte que toute addition d'alcalinité provoque une diminution de la coloration directement proportionnelle.

☐ Réactifs

– Solution d'hélianthine :

Hélianthine (méthylorange)	0,5	g
Eau déionisée	q.s.p.	1 L

– Solution tampon pH 3,1 :

Hydrogénophtalate de potassium		10,2 g
Acide chlorhydrique 0,1 N		175 cm^3
Eau déionisée	q.s.p.	1 L

Dissoudre l'hydrogénophtalate de potassium dans de l'eau déionisée, ajouter l'acide chlorhydrique puis compléter le volume à 1 litre. Le pH doit être de 3,1, sinon l'ajuster avec de l'acide chlorhydrique N. Cette solution est stable une semaine.

– Réactif spécial :

Solution d'hélianthine		85 cm^3
Solution tampon		250 cm^3
Brij 35 (polyoxyéthylène (23) lauryl ether)		0,5 cm^3
Eau déionisée	q.s.p.	1 L

– Solution étalon correspondant à 1 g. L^{-1} de carbonate de calcium :

Carbonate de sodium, pur et anhydre, desséché 1 h à l'étuve à 140 °C		1,06 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 L

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon une série de dilutions correspondant à des concentrations en carbonate de calcium comprises entre 0 et 500 mg. L^{-1} (0 – 50 °f).

Traiter ces solutions selon le mode décrit pour le mode opératoire. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation (figure ci-dessous). La cadence des déterminations est de 40 échantillons à raison d'un rinçage de 30 secondes pour un temps de prise d'échantillon de 60 secondes. Faire fonctionner l'appareillage avec les réactifs et de l'eau déionisée jusqu'à obtention d'une ligne de base stable.

Effectuer les lectures à 550 nm.

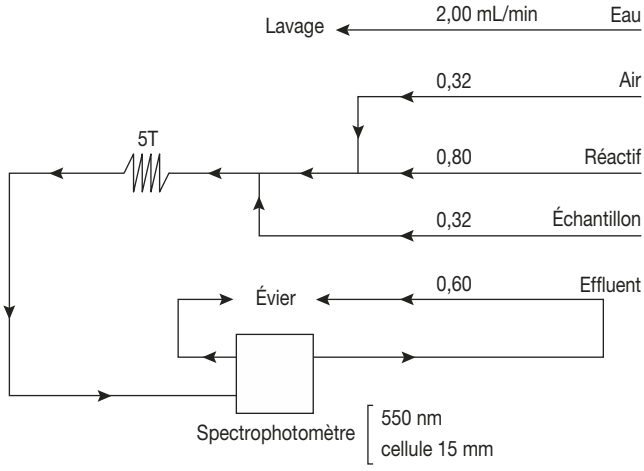


Schéma d'utilisation

Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement l'alcalinité exprimée en degrés français.

> **Remarque**
> Préparer les réactifs et la gamme étalon avec de l'eau déionisée exempte d'anhydride carbonique obtenue par l'ébullition.

Méthodes de référence

NF EN ISO 9963-1 (février 1996). Qualité de l'eau – Détermination de l'alcalinité – Partie 1 : Détermination de l'alcalinité totale et composite (Indice de classement : T90-036).

NF EN ISO 9963-2 (janvier 1996). Qualité de l'eau – Détermination de l'alcalinité – Partie 2 : Détermination de l'alcalinité carbonate (Indice de classement : T90-051).

5.8 Carbone minéral total

5.8.1 Méthode d'évolution

Comme indiqué dans le chapitre consacré aux équilibres calcocarboniques, le Carbone Minéral Total (CMT) est une grandeur fondamentale de la composition des eaux. On peut donc penser que sa mesure directe puisse présenter un intérêt et notamment lorsque l'eau à analyser présente un faible TAC et une concentration élevée de CO_2 libre. Mais, l'appareillage nécessaire est complexe et inadapté à une mesure sur les lieux de prélèvement. Il convient donc de prétraiter l'échantillon sur le lieu même du prélèvement afin de fixer le CO_2 libre en lui ajoutant un excès d'hydroxyde de sodium.

Il existe deux méthodes de dosage du carbone minéral total (méthode d'évolution et méthode de Van Slyke). On ne retiendra que la méthode d'évolution qui est basée sur un dosage titrimétrique.

Principe

Le dioxyde de carbone du carbonate de calcium précipité lors du prétraitement et des ions carbonates et hydrogénocarbonates dissous est libéré par un excès d'acide. Le CO_2 formé est entraîné par un courant d'air exempt de CO_2, vers une solution de baryte dans laquelle il barbote. Après absorption du dioxyde de carbone, la baryte restante est titrée.

Matériel spécial

L'appareil (voir figure « Schéma d'un appareil pour dosage du carbone minéral total ») est constitué par une boîte munie d'ampoules électriques et d'un fond de verre pour l'éclairage éventuel.

À l'intérieur de la boîte sont fixés des bouchons reliés à des burettes et à un système de circulation d'air. Une plaque chauffante peut être introduite sous le ballon à évolution (D). Une pompe (P) provoque la circulation de l'air du ballon à évolution dans le tube d'absorption (E) à travers un disque de verre fritté scellé dans le verre (G).

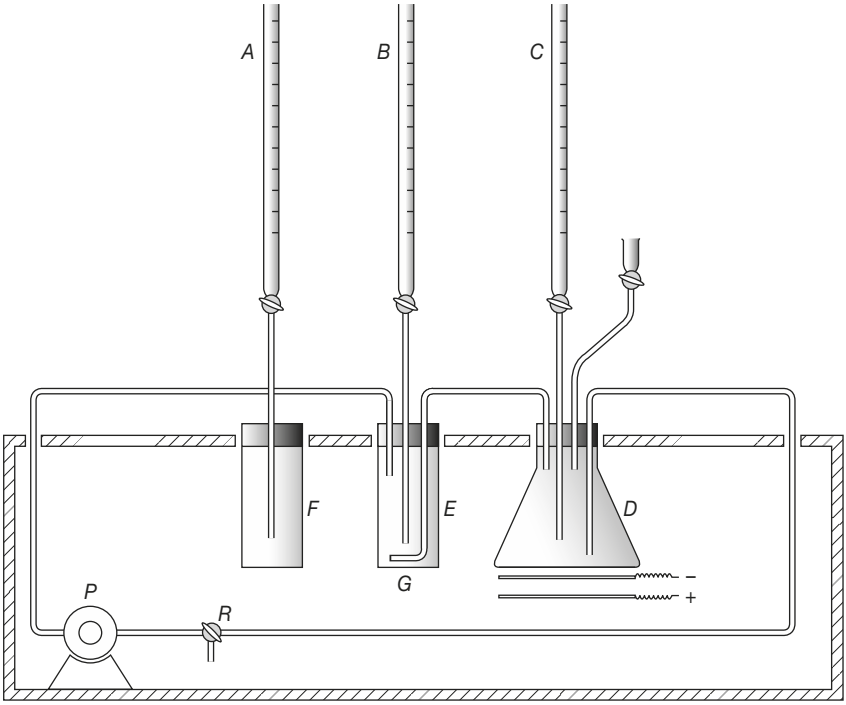


Schéma d'appareil pour dosage du carbone minéral total par la méthode d'évolution

□ **Réactifs**

Acide sulfurique 0,1 N.

Acide chlorhydrique 0,02 N.

Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N

Solution d'hydroxyde de baryum 0,02 N.

Le titre de cette solution est déterminé à l'aide de l'appareil à évolution. Introduire 50 cm^3 de solution de la burette *A* dans le flacon *E* et monter l'appareil. Verser 200 cm^3 d'eau déionisée exempte de dioxyde de carbone dans le flacon *D,* faire démarrer la pompe et laisser circuler les gaz pendant 10 minutes environ. Titrer l'hydroxyde de baryum avec l'acide chlorhydrique 0,02 *N* jusqu'au virage de la phénolphtaléine.

Solution alcoolique de phénolphtaléine à 0,1 %.

Solution d'hélianthine à 1 %.

■ Mode opératoire

Prélèvement et prétraitement de l'échantillon

Un échantillon d'environ 200 cm^3 est placé directement dans la fiole conique (D) qui sera utilisée pour le dosage. Ajouter immédiatement 10 cm^3 de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N et vérifier que le pH de l'échantillon est supérieur à 8,5 par addition de quelques gouttes de solution de phénolphtaléine. Si la coloration rose violacée ne se développe pas, ajouter

de nouveau 10 cm^3 de solution d'hydroxyde de sodium. Fermer hermétiquement la fiole à l'aide d'un bouchon en caoutchouc. Un précipité de carbonate de calcium peut apparaître. Effectuer le dosage dans les 24 h qui suivent la prise d'échantillon.

Dosage

À l'aide de la burette *A,* introduire 50 cm^3 (ou 100 cm^3 si l'on a doublé le volume de soude introduite lors du prétraitement) de solution d'hydroxyde de baryum *0,02 N* dans le flacon en position *F,* puis placer celui-ci en position *E.* Ajouter 2 gouttes d'hélianthine dans l'échantillon, puis installer la fiole conique en position (D), sur la plaque chauffante (l'échantillon ne doit pas contenir plus de 200 mg de CMT par litre).

Mettre le robinet à trois voies en communication avec l'atmosphère et enclencher la pompe *P.* Puis placer le robinet en position de circulation dès que les bulles apparaissent dans la fiole conique.

Pendant la circulation des gaz qui brassent la solution, ajouter de l'acide sulfurique 0,1 *N* à l'échantillon à analyser jusqu'au virage persistant de l'hélianthine (tout le précipité de carbonate de calcium doit être dissous). Ajouter 20 cm^3 d'acide en excès et noter le volume total d'acide utilisé. Chauffer la solution jusqu'au début d'ébullition et continuer la circulation des gaz pendant 10 minutes sans chauffer. La solution de baryte placée dans le vase d'absorption se trouble en raison de la précipitation du carbonate de baryum.

Mesurer le volume V_1 de solution contenu dans la fiole conique.

Titrer la solution contenue dans le vase d'absorption *E* avec l'acide chlorhydrique 0,02 *N* jusqu'au virage de la phénolphtaléine.

■ Expression des résultats

Le volume de l'échantillon d'eau prélevé (V_e) est égal à :

$$V_e = V_1 - (V_{soude} + V_{acide}).$$

(Le volume de solution d'hydroxyde de sodium introduit lors du prélèvement est de 10 ou 20 cm^3).

Soit V le volume en cm^3 d'acide chlorhydrique 0,02 *N* correspondant au volume de solution d'hydroxyde de baryum utilisé et v le volume d'acide utilisés pour le dosage (penser à doubler le volume V si on a utilisé 100 cm^3 de solution de baryte).

(V – v) x 0,02 est le nombre de milliéquivalents de CMT contenu dans l'échantillon.

La concentration en CMT de l'eau analysée est

$$CMT = \frac{(V - v).0{,}02.1000}{2V_e} = 10\,\frac{(V - v)}{V_e} \text{ en millimoles.L}^{-1}$$

Ou encore $CMT = 440\,\frac{(V - v)}{V_e}$ en mg de CO_2 par litre

Remarques

– Les phosphates, silicates et aluminates ne gênent pas et la méthode donne une précision supérieure ou égale à 5 % sauf en présence de sulfures, sulfites et sels d'acides volatils,

– Si la concentration en CMT de l'eau est supérieure à 200 mg de CO_2 par litre, il convient d'adapter le volume de solution d'hydroxyde de sodium nécessaire au blocage de l'échantillon ainsi que le volume de solution de baryte placé dans le vase à absorption.

5.8.2 Méthode instrumentale

L'utilisation d'un analyseur de carbone permet également d'accéder à la détermination du carbone minéral (cf. § A-9.4). Comme précédemment, l'échantillon doit être prétraité au moment du prélèvement par ajout d'hydroxyde de sodium en excès afin de fixer le CO_2 libre.

Méthode de référence

AFNOR, norme NF T 90-011. Dosage du dioxyde de carbone dissous. Paris, Février 2001.

5.9 Dureté ou titre hydrotimétrique (TH)

■ Définitions

La dureté ou titre hydrotimétrique d'une eau correspond à la somme des concentrations en cations métalliques à l'exception de ceux des métaux alcalins et de l'ion hydrogène. Dans la plupart des cas la dureté est surtout due aux ions calcium et magnésium auxquels s'ajoutent quelquefois les ions fer, aluminium, manganèse, strontium.

La dureté est encore appelée dureté calcique et magnésienne ou consommation de savon. Elle s'exprime en milliéquivalents de concentration en $CaCO_3$. Elle est aussi très souvent donnée en degrés français (*voir* plus loin la définition).

Dans l'eau sont déterminés :

– *la dureté totale* ou titre hydrotimétrique *TH* qui est la somme des concentrations calcique et magnésienne ;

– *la dureté calcique* qui correspond à la teneur globale en sels de calcium ;

– *la dureté magnésienne* qui correspond à la teneur globale en sels de magnésium ;

– *la dureté carbonatée* correspond à la teneur en hydrogénocarbonate et carbonate de calcium et de magnésium. Elle est égale au *TAC* si le *TH* est supérieur au *TAC* et au *TH*, si le *TAC* est supérieur au *TH* ;

– *le titre alcalimétrique TA* qui correspond aux alcalis libres et aux carbonates alcalins caustiques ;

– *la teneur en anhydride carbonique libre ;*

– *la dureté permanente* ou non carbonatée *P* correspond à la dureté qui persiste après ébullition de l'eau. Elle représente la teneur en sulfates et chlorures de calcium et de magnésium. Elle est égale à *TH* – *TAC* à condition que l'eau ne renferme pas de bicarbonate de sodium. Dans le cas contraire,

le *TAC* est majoré de 1° pour 16,8 mg de $NaHCO_3$ par litre d'eau.

– *la dureté temporaire* qui n'est autre que la différence entre la dureté totale et la dureté permanente *TH – P*.

Si la dureté totale est égale ou inférieure à la dureté carbonatée, elle est entièrement due aux hydrogénocarbonates et aux carbonates ; si elle est plus élevée, il existe une dureté non carbonatée qui, en fait, correspond à la dureté permanente (sulfate de calcium et de magnésium et accessoirement chlorures et nitrates).

De nombreux pays ont adopté des variantes dans la définition de la dureté.

– Le degré hydrotimétrique ou degré français (°H ou °f) représente la dureté d'une solution contenant 10 mg de carbonate de calcium au litre, soit 4 mg de calcium, c'est-à-dire 1/5 de milliéquivalent ou 0,1 mmol/L. Inversement, 1 mEq de Ca = 5 °H ou 5 °f.

– Le degré hydrotimétrique allemand (°DH) représente la dureté d'une solution contenant 10 mg d'oxyde de calcium par litre.

– Le degré hydrotimétrique anglais (°Clark) représente la dureté d'une solution contenant un grain de carbonate de calcium par gallon impérial soit 14,3 mg/L.

– Le degré hydrotimétrique américain s'exprime en ppm ou en mg/L de carbonate de calcium.

Tableau de correspondance entre les diverses unités étrangères et françaises

		Degré français	Degré anglais	Degré allemand	Degré américain	Milliéquivalent
Degré français	°f 1	0,70	0,56	0,58	0,2	
Degré anglais	°Clark	1,43	1	0,80	0,83	0,286
Degré allemand	°DH	1,79	1,25	1	1,04	0,358
Degré américain	ppm	1,72	1,2	0,96	1	0,34
Milliéquivalent	mEq	5	3,5	2,8	2,9	1

5.9.1 Dureté totale par titrimétrie à l'EDTA

Cette méthode permet de doser rapidement les ions calcium et magnésium ; avec certaines précautions, elle est appropriée à la plupart des types d'eaux.

■ Principe

Les alcalinoterreux présents dans l'eau sont amenés à former un complexe du type chélate par le sel disodique de l'acide éthylènediamine tétracétique à *p*H 10. La disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique, le noir ériochrome. En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du

magné-sium, la méthode permet de doser la somme des ions calcium et magnésium.

☐ **Réactifs**

– Solution de noir ériochrome T à 0,5 % :

sel de sodium de l'acide [(hydroxy-1-naphtylazo-2) nitro-6-naphtol-2-sulfonique-4)](*)		0,5 g
triéthanolamine	*q.s.p.*	100 mL

– Solution tampon *p*H 10 :

chlorure d'ammonium (NH_4Cl)		67,5 g
ammoniaque (*d* = 0,925)		570 mL
sel disodique de magnésium de l'EDTA ($C_{10}H_{12}N_2O_8Na_2Mg$)		5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Conserver la solution en flacon de polyéthylène.

Vérifier le *p*H qui doit être égal à 10 sur une dilution au 1/10 de la solution avec de l'eau déionisée.

– Solution d'EDTA :

sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique		3,725 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Conserver la solution en flacon de polyéthylène et vérifier son titre périodiquement à l'aide de la solution étalon de calcium. Prélever 20 mL de solution étalon de calcium, les diluer à 50 mL puis procéder au dosage comme décrit dans le mode opératoire. La concentration de la solution d'EDTA en mol./L est donnée par l'expression

$$c = 0{,}01 \times \frac{v_1}{v_2}$$

v_1 = Volume en mL de la solution étalon.

v_2 = Volume en mL de la solution d'EDTA.

– Solution étalon de calcium à 0,4008 g/L :

carbonate de calcium déshydraté		1,001 g
acide chlorhydrique dilué au 1/4	*q.s.p.*	dissoudre
rouge de méthyle		quelques gouttes
ammoniaque diluée au 1/10	*q.s.p.*	virage de l'indicateur
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Mettre le carbonate de calcium dans un bécher, ajouter 100 mL d'eau puis de l'acide chlorhydrique en quantité juste suffisante pour dissoudre le carbonate de calcium. Ajouter 200 mL d'eau et porter la solution à l'ébullition quelques minutes pour éliminer le dioxyde de carbone. Après refroidissement, ajouter quelques gouttes de solution de rouge de méthyle puis de la solution d'ammoniaque jusqu'au virage de l'indicateur à l'orange.

Transvaser la solution dans une fiole jaugée de 1 litre, compléter le volume avec de l'eau déionisée. 1 mL de la solution contient 0,4008 mg de calcium.

■ Mode opératoire

Introduire 50 mL d'eau à analyser dans une fiole conique de 250 mL, ajouter 4 mL de solution tampon et trois gouttes de solution de noir ériochrome T. La solution se colore en rouge foncé ou violet, le *p*H doit être de 10. En maintenant une agitation, verser la solution d'EDTA rapidement au début puis goutte

* Commercialisé sous le nom de Noir ériochrome T.

à goutte lorsque la solution commence à virer au bleu. Vérifier que la coloration ne change plus par l'addition d'une goutte supplémentaire d'EDTA.

Expression des résultats

La concentration totale en calcium et magnésium, exprimée en milliéquivalents par litre, est donnée par l'expression

$$1\,000 \times \frac{c \times v_1}{v_2}$$

c = Concentration en milliéquivalents par litre de la solution d'EDTA.
v_1 = Volume en mL de la solution d'EDTA.
v_2 = Volume d'échantillon.

Remarques

– La limite de détection est d'environ 2 à 5 mg/L en $CaCO_3$.

– L'addition d'éthanol dans la proportion de 25 % pour la dissolution du noir d'ériochrome T permet de diminuer la viscosité de la solution. Un mélange de 1 g de noir ériochrome et de 100 g de chlorure de sodium finement pulvérisé peut être également utilisé comme indicateur.

– Le *p*H de la solution après l'addition de solution tampon doit être égal à 10. S'il est inférieur, ajouter la quantité de tampon nécessaire pour l'obtenir.

– Si au cours du dosage, le volume de solution d'EDTA utilisé est inférieur à 2 mL, utiliser un plus grand volume d'échantillon ; s'il est supérieur à 20 mL, diminuer la prise d'échantillon.

– Certains éléments métalliques tels que l'aluminium, le plomb, le fer, le cuivre, le manganèse, l'étain et le zinc peuvent produire des interférences soit parce qu'ils sont dosés en même temps que le calcium et le magnésium, soit parce qu'ils réagissent sur l'indicateur. Les phosphates et carbonates risquent de précipiter le calcium au *p*H du dosage. Le baryum, l'aluminium et le manganèse perturbent le virage au-delà de 2 à 3 mg/L pour le baryum, 10 mg/L pour l'aluminium et 0,2 mg/L pour le manganèse. Le virage ne se produit plus pour 1 mg/L de cuivre, cobalt ou nickel. Une erreur de 0,1 degré français est introduite pour 2 mg/L de fer et 10 mg/L de plomb. Éventuellement, des agents masquants (cyanure de sodium) peuvent être utilisés. Le cyanure de sodium est un poison violent, veiller à prendre les précautions qui s'imposent au cours de sa manipulation et des rejets.

– En présence de cuivre, ajouter à la solution d'indicateur une petite quantité de diéthyldithiocarbamate de sodium, qui complexe le cuivre et élimine son interférence. Pour des doses supérieures à 5 mg/L, le cuivre devra être complexé par du cyanure de potassium.

– Le manganèse bivalent ne gêne pas la fin du virage, mais il la retarde de la quantité d'ions Mn^{++} contenus dans l'eau. Donc, non seulement la dureté mais encore le manganèse dissous sont titrés.

– La méthode ne convient pas aux effluents et à l'eau de mer.

5.9.2 Détermination de la dureté calcique

Se reporter à la méthode de dosage du calcium (A-7.14.1).

5.9.3. Détermination de la dureté magnésienne

La différence entre la dureté totale et la dureté calcique donne directement la dureté magnésienne de l'eau analysée.

Méthodes de référence

NF T90-003 (août 1984). Essais des eaux – Détermination de la concentration totale en calcium et magnésium – Méthode titrimétrique à l'EDTA.

NF T90-016 (août 1984). Essais des eaux – Dosage du calcium – Méthode titrimétrique à l'EDTA.

5.10 Titre acidimétrique (TACi) ou Anions d'acides forts ou Sels d'acides forts (SAF)

La salinité en anions d'acides forts d'une eau correspond à la somme des anions de basicité très faible, c'est-à-dire les chlorures, les sulfates et les nitrates. On appelle ce titre SAF ou TACi.

Le principe consiste à échanger sur résine cationique forte, régénérée sous forme H^+, tous les cations de l'eau, afin de libérer les acides correspondants dont :

– principalement l'acide carbonique,

– à des concentrations plus faibles, les acides chlorhydrique, sulfurique et nitrique,

– à des concentrations de traces, l'acide silicique, l'acide phosphorique et les acides organiques.

Le dosage des acides forts libérés est alors effectué par la soude diluée en présence d'hélianthine. Le résultat permet d'atteindre la somme des anions chlorures, sulfates et nitrates initialement présents dans l'eau.

■ Principe

La salinité anionique forte est libérée sous la forme des acides correspondants en faisant passer l'eau à analyser sur un échangeur de cations fortement acide. On utilise l'échangeur de cations régénéré sous forme H^+ ; il peut donc échanger tous les cations de l'eau contre l'ion hydrogène. Les réactions d'échanges sur la résine sont les suivantes

$R\,H_2 + MSO_4$ (ou M_2SO_4) → $R\,M$ ou $(R\,M_2) + H_2SO_4$

$R\,H$ (ou $R\,H_2$) + MCl (ou MCl_2) → $R\,M$ ou $(R\,M_2)$ + (1 ou 2) HCl

$R\,H$ (ou $R\,H_2$) + MNO_3 (ou $M\,(NO_3)_2$) → $R\,M$ ou $(R\,M_2)$ + (1 ou 2) HNO_3

avec M = cation divalent ou monovalent.

Les acides libérés sont alors dosés à la soude titrée en présence d'hélianthine.

□ Appareillage

Matériel et verrerie courants de laboratoire.

Une colonne pour échanges d'ions munie d'une plaque de verre fritté et d'un robinet.

☐ **Réactifs**

Soude N/10

Hélianthine : solution à 5 g/L dans un mélange 50 % eau – 50 % d'éthanol

Acide chlorhydrique approximativement normal.

Résine échangeuse de cations type CF ou CFP.

■ Mode opératoire

MISE EN ŒUVRE DE LA RÉSINE

– Introduire 50 ml de résine dans une colonne.

– Régénérer par passage de 500 ml d'HCl environ N à un débit de 1 à 2 gouttes par seconde.

– Rincer à l'eau déionisée jusqu'à neutralité à l'hélianthine.

Remarque : Ne jamais laisser la résine à sec en cours d'utilisation ; laisser au moins 1 cm de liquide au-dessus du lit.

MESURE DU TACI

– Laisser écouler 150 à 200 ml d'eau à analyser (à raison d'une goutte toutes les deux secondes], à travers la résine échangeuse de cations, et recueillir en fin de passage 100 ml de l'éluat.

– Ajouter quelques gouttes d'hélianthine et titrer par la soude N/10 jusqu'au virage de l'indicateur.

■ Expression des résultats

Si N est le nombre de ml de soude N/10 utilisé, le TACi est 5 N en degrés français.

6 • ÉQUILIBRE CALCOCARBONIQUE (AGRESSIVITÉ, ENTARTRAGE)

Certaines eaux naturelles sont susceptibles de déposer du carbonate de calcium sur les parois des ouvrages de distribution d'eau selon un processus qui est très voisin de celui qui est observé sur les parois des cavernes souterraines et qui conduit à la formation des concrétions telles que les stalagmites ou les stalactites. De telles eaux sont dites **calcifiantes** ou encore **incrustantes.** Elles peuvent aussi dans certains cas, former des dépôts volumineux dans les échangeurs thermiques ou les ballons de production d'eau chaude et en perturbent le fonctionnement. Ces eaux sont alors qualifiées d'**entartrantes**. À l'inverse, certaines eaux peuvent dissoudre le carbonate de calcium lorsqu'elles sont en contact avec une roche ou un matériau calcaire. Elles sont alors dites **agressives**.

Lorsque les eaux sont calcifiantes elles peuvent former une couche protectrice de carbonate de calcium qui isole le matériau de l'eau et permet ainsi de réduire les risques de corrosion des métaux ou de dégradation des matériaux à base de ciment (béton armé ou précontraint ou mortier de ciment). C'est d'ailleurs cette propriété qui conduit les distributeurs d'eau à s'intéresser à cette propriété des eaux et qui a aussi amené les autorités sanitaires à imposer aux responsables des services d'eau de distribuer des eaux légèrement calcifiantes.

Ces propriétés sont liées à la faible solubilité du carbonate de calcium. Et comme tout composé ou sel, la solubilité de $CaCO_3$ est soumise aux règles élémentaires de la chimie. La thermodynamique précise, par la loi d'action de masse, les conditions d'équilibre et de solubilité (**équilibre calcocarbonique**). Il suffirait donc de connaître les concentrations des ions calcium et carbonate pour savoir, par une simple multiplication, si l'eau est calcifiante ou agressive. Mais si l'on peut déterminer simplement la concentration en calcium de l'eau par l'analyse, il n'en est pas de même de celle des ions carbonate. En effet, il s'agit d'un anion qui résulte de la dissociation du diacide faible, l'acide carbonique, et aucune mesure simple et directe de la concentration en carbonate n'est possible. Seul l'ensemble des concentrations en ions hydrogénocarbonate et carbonate peut être évalué par un simple dosage alcalimétrique. Le système se complique encore par le fait que la concentration en acide carbonique est elle-même en relation avec la pression partielle de l'anhydride carbonique (gaz carbonique, CO_2) présent dans le gaz avec lequel l'eau est en contact.

Ainsi, pour connaître le comportement d'une eau en contact avec du carbonate de calcium on doit recourir au calcul. Mais les mathématiques étant pour beaucoup, quelque peu rebutantes, et cela malgré des simplifications importantes, de nombreux auteurs ont proposé des méthodes graphiques

plus ou moins simples d'emploi, qui, à partir de données analytiques de base, permettent de connaître rapidement les propriétés de l'eau étudiée. Mais les auteurs de ces méthodes graphiques ont dû fixer des hypothèses simplificatrices de calcul, qui, si elles ne sont pas respectées, l'application de ces méthodes à des eaux ne respectant pas les hypothèses de départ, peut conduire à des erreurs de diagnostic lourdes de conséquences en matière de choix des traitements ou de la détermination de la dose de réactif.

Après un rappel historique des diverses méthodes proposées et des données analytiques de base nécessaires aux calculs, on développera ensuite les aspects théoriques des calculs. On étudiera enfin l'indice de Langelier qui est encore très utilisé ainsi que les deux méthodes graphiques les plus couramment utilisées en France notamment. En effet, même si les développements actuels de l'informatique permettent d'effectuer très rapidement les calculs avec toute la rigueur souhaitée, la visualisation graphique reste pour beaucoup d'utilisateurs, une manière simple et rapide de mieux comprendre les propriétés des eaux et l'effet des traitements.

6.1 Rappel historique des diverses méthodes proposées

C'est TILLMANS qui, en 1912, fut le premier à proposer une méthode graphique qui avait pour coordonnées $[H_2CO_3]$ en ordonnée et ½ $[HCO_3^-]$ en abscisse.

Puis on peut citer par ordre chronologique :

– KANKO (1932) qui propose un graphique Log [CO2 libre] = f(pH).

– HOOVER et LANGELIER (1936) qui proposent un graphique permettant l'évaluer la force ionique à partir du résidu sec et un indice de saturation IL = $pH-pH_s$ où pH_s est le pH d'équilibre calcocarbonique.

– FRANQUIN et MARÉCAUX (1936) qui proposent un graphique :

$$(½\ [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]) = f(½\ [HCO_3^-] + [H_2CO_3])$$

– POURBAIX (1945) qui propose un graphique log ($[Ca^{2+}]$) = f(pH).

– HALLOPEAUX et DUBIN (1949) qui proposent un graphique pH = f(log $[HCO_3^-]$).

– SCHMITT (1955) qui propose un graphique $[Ca^{2+}]$ = f(pH).

– LEGRAND et POIRIER (1979) qui proposent un graphique CMT = f $[Ca^{2+}]$ où CMT est le Carbone Minéral Total = $[H_2CO_3] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]$

Depuis les années 80 l'avènement de l'informatique a permis de développer des logiciels qui permettent de réaliser les calculs très rapidement. On peut citer :

– BOUSQUET (1979) qui a publié un organigramme de logiciel pouvant s'adapter aux calculatrices de poche.

– LEGRAND, POIRIER et LEROY (1981) qui ont publié un ouvrage qui comportait des listings de programmes adaptés à des calculettes et un logiciel en basic.

– HISSEL (1982) qui a publié un organigramme de calcul matriciel.

– DERREUMAUX (1985) qui a publié un logiciel adapté à la méthode LEGRAND-POIRIER et qui le commercialise.

Le grand nombre de méthodes graphiques publiées montre l'intérêt permanent pour l'équilibre calcocarbonique, mais il montre aussi que les premières méthodes graphiques étaient imparfaites.

Actuellement, en France, on utilise principalement deux méthodes, celle de HALLOPEAUX et DUBIN ainsi que celle de LEGRAND POIRIER. Mais généralement on procède au calcul informatique des conditions d'équilibre calcocarbonique, et on utilise les représentations graphiques pour visualiser les évolutions de l'eau sous l'effet des traitements.

On utilise encore dans les laboratoires, l'indice de LANGELIER (IL) ou plus souvent dénommé indice de saturation (IS) qui présente l'intérêt de comparer simplement le pH de l'eau étudiée à son pH d'équilibre (pH_s).

6.2 Données analytiques nécessaires aux calculs d'équilibre calcocarbonique

6.2.1. Éléments permettant de connaître la concentration en carbonate

Comme indiqué ci-dessus, les ions carbonate résultent de la dissociation du diacide carbonique et sont en équilibre avec les ions hydrogénocarbonate et les ions H_3O^+. Toutes les eaux naturelles contiennent les différents ions et molécules dérivés de l'acide carbonique :

– L'acide carbonique H_2CO_3, encore appelé CO_2 libre,

– Les ions hydrogénocarbonate HCO_3^-, que l'on nommait par le passé le CO_2 semi-combiné,

– Les ions carbonate, CO_3^{2-}, que l'on nommait aussi par le passé, le CO_2 combiné,

– Les ions associés à la dissociation de l'eau (H_3O^+ et OH^-).

On peut évaluer facilement la concentration en ions H_3O^+ par la mesure du **pH** (cologarithme de l'activité des ions H_3O^+). Il faut rappeler que seule la mesure du pH de l'eau effectuée sur le lieu de prélèvement n'a de signification, car pendant le transport de l'échantillon, le gaz carbonique (CO_2 libre) peut s'évader vers l'atmosphère, ce qui entraîne une élévation du pH, ou, plus rarement, le CO_2 atmosphérique peut se dissoudre dans l'eau entraînant alors un abaissement du pH.

On peut aussi mesurer la concentration en CO_2 libre par la mesure acidimétrique présentée précédemment. Mais les risques d'erreur mentionnés pouvant fausser le résultat de la mesure on lui préférera la mesure du pH.

Pour les ions HCO_3^- et CO_3^{2-} on ne dispose que de mesures globales qui sont les titres alcalimétriques simple (**TA**) et complet (**TAC**) (voir le chapitre consacré à ces mesures).

6.2.2 Autres éléments analytiques nécessaires ou souhaitables

Afin de pouvoir évaluer les conditions d'équilibre calcocarbonique il est bien sûr nécessaire de connaître la concentration en **calcium** de l'eau étudiée.

De même, les conditions d'équilibres de dissociation de l'acide carbonique et de solubilité du carbonate de calcium variant avec la température de l'eau, il est aussi nécessaire de connaître la **température** de l'eau au point de puisage. Il faut rappeler que seule la température mesurée sur le lieu même de prélèvement et immédiatement après la prise d'échantillon est à considérer. La mesure de température réalisée en laboratoire n'a strictement aucun intérêt pour l'utilisation dans les calculs d'équilibre calcocarbonique et doit être écartée lors du choix des données à prendre en compte.

La connaissance des concentrations des autres ions qui pèsent dans la balance ionique est très souhaitable pour permettre de calculer la force ionique avec une précision suffisante.

6.3 Aspects théoriques de l'équilibre calcocarbonique

Les divers équilibres à considérer concernent des éléments dissous dans l'eau (CO_2 libre, hydrogénocarbonate, carbonate et calcium), mais ils concernent aussi des molécules présentes dans la phase solide ($CaCO_3$) et dans la phase gazeuse (CO_2).

6.3.1 Relations entre les concentrations des éléments dissous

Quatre relations existent entre les concentrations en éléments majeurs, quelle que soit l'eau considérée.

Trois d'entre elles sont tirées de la loi d'action de masse :

– Les 2 premières relations expriment les 2 équilibres carboniques :

- la 1re relation exprime l'équilibre existant entre le CO_2 libre d'une part et les ions hydrogénocarbonate et hydrogène d'autre part :

$$H_2CO_3 + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + HCO_3^-$$

$$\text{Avec } K_1' = \frac{[H_3O^+] \cdot [HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} \qquad \textbf{(1)}$$

- la 2e relation exprime l'équilibre existant entre les ions hydrogénocarbonate d'une part et les ions carbonate et hydrogène d'autre part :

$$HCO_3^- + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + CO_3^{2-}$$

$$\text{Avec } K_2' = \frac{[H_3O^+] \cdot [CO_3^{2-}]}{[HCO_3^-]} \qquad \textbf{(2)}$$

– la 3e relation exprime l'équilibre de dissociation de l'eau, c'est-à-dire l'équilibre existant entre les ions hydrogène et les ions hydroxyle :

$$2H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + OH^-$$

$$\text{Avec } K'_e = [H_3O^+]\,[OH^-] \qquad \textbf{(3)}$$

Dans chacune de ces 3 relations apparaît une « constante » qui est fonction de la température de l'eau et aussi de sa force ionique. L'unité de concentration est la mole par litre (M. l^{-1}).

Enfin, une 4e relation exprime la neutralité électrique. Elle fait apparaître les concentrations de tous les cations ainsi que les concentrations de tous les anions qui pèsent dans la balance ionique. Selon la forme de la relation, l'unité de concentration est soit le milliéquivalent par litre (me/l) ou le degré français, soit la millimole par litre (mM. l^{-1}) (cas de la formule ci-après) :

$$2[Ca^{2+}] + 2[Mg^{2+}] + [Na^+] + [K^+] + [H_3O^+] = [HCO_3^-] + 2[SO_4^{2-}] + [Cl^-] + [NO_3^-] + [OH^-] + 2[CO_3^{2-}] \qquad \textbf{(4)}$$

6.3.2 Relations entre des éléments dissous et des éléments d'une autre phase

■ Équilibre avec une phase solide : le carbonate de calcium

Lorsqu'une eau est à l'équilibre avec le carbonate de calcium (équilibre calcocarbonique), il existe une relation supplémentaire entre la concentration en calcium et la concentration en carbonate :

$$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \leftrightarrow CaCO_3$$

$$\text{Avec } K'_s = [Ca^{2+}]\,[CO_3^{2-}] \qquad \textbf{(5)}$$

Comme pour les trois premières relations ci-dessus, la « constante » K'_s est fonction de la température de l'eau et de sa force ionique. L'unité de concentration est la M. l^{-1}.

Pour caractériser les propriétés calcocarboniques d'une eau il peut être utile de considérer le taux de saturation, appelé « saturatio » qui est défini par la relation suivante :

$$TS = \frac{[Ca^{2+}] \cdot [CO_3^{2-}]}{K'_s}$$

Une eau peut, si TS < 1, être agressive, c'est-à-dire peut dissoudre du carbonate de calcium, ou, si TS > 1, être calcifiante, c'est-à-dire déposer du carbonate de calcium. Si TS = 1 l'eau est à l'équilibre calcocarbonique. Cette possibilité existe théoriquement. Mais en réalité, il est très peu probable que les caractéristiques d'une eau correspondent rigoureusement aux caractéristiques calculées, et si cela était, compte tenu de la précision des mesures, il est encore moins probable qu'elle soit réellement à l'équilibre.

Équilibre avec une phase gazeuse : l'anhydride carbonique (CO_2)

Lorsqu'une eau est en équilibre avec une phase gazeuse, la concentration en chaque gaz dissous est proportionnelle à la pression partielle de ce gaz dans la phase gazeuse. Le coefficient de proportionnalité ne dépend que de la température et du gaz considéré.

On considère l'oxygène et l'azote en raison de leur importance dans l'atmosphère, et le gaz carbonique en raison de sa présence habituelle dans les eaux naturelles et son rôle dans les équilibres carboniques.

Si l'eau est en présence de l'air atmosphérique, les équilibres sont les suivants :

$$O_{2\,gazeux} \leftrightarrow O_{2\,aqueux}$$
$$N_{2\,gazeux} \leftrightarrow N_{2\,aqueux}$$
$$CO_{2\,gazeux} \leftrightarrow CO_{2\,aqueux}$$

Rappelons que le CO_2 aqueux donne naissance à l'acide carbonique, noté H_2CO_3 vrai et que l'on considère la somme de ces deux éléments, désignée sous le nom de CO_2 libre (ou H_2CO_3). À la dernière relation précédente, on substituera donc la relation :

$$CO_{2\,gazeux} \leftrightarrow CO_{2\,libre}$$

La loi de HENRY détermine les conditions de ces équilibres. Étant donné une eau en contact avec une phase gazeuse, elle établit, à température donnée, pour chaque élément, un rapport constant entre sa pression partielle (pe) dans la phase gazeuse et sa concentration (ce) dans la phase liquide, il peut exister les relations suivantes :

$$p_{O_2} = H_1.[O_2]$$
$$p_{N_2} = H_2.[N_2]$$

$$p_{CO_2} = H_3.[CO_2 libre] \qquad \textbf{(6)}$$

Les constantes H_1, H_2, H_3 ne dépendent que de la température et du gaz considéré. Elles ne varient pratiquement pas avec la force ionique de la solution.

Pour des pressions partielles inférieures à 10 bars, les valeurs de ces constantes sont portées dans le tableau 1.

Tableau 1

	5 °C	15 °C	25 °C	60 °C
$H_1 \times 10^3$	16,47	20,65	24,75	37,04
$H_2 \times 10^3$	39,08	48,07	56,51	78,18
$H_3 \times 10^3$	0,3640	0,5077	0,6835	1,414

Les valeurs portées dans le tableau 1 permettent de déterminer les quantités d'oxygène, d'azote, de dioxyde de carbone libre qui sont dissoutes lorsque l'eau est en équilibre avec l'atmosphère, ce qui correspond aux solubilités de ces gaz dans une eau au contact de l'atmosphère.

La pression du gaz en contact avec l'eau est la somme des pressions partielles de l'oxygène, de l'azote, du dioxyde de carbone libre, et de la vapeur d'eau. On peut considérer que l'atmosphère au contact du liquide est saturée en vapeur d'eau, ce qui permet, pour chaque température, de déterminer la pression partielle de la vapeur d'eau.

Pour la pression partielle du gaz carbonique dans l'air atmosphérique, la valeur admise est : p_{CO2} = 0,0003 bar.

6.3.3 Éléments fondamentaux – éléments caractéristiques

Des considérations qui précèdent, on peut distinguer parmi l'ensemble des ions et molécules dissouts dans l'eau, ceux qui interviennent directement dans les divers équilibres et qui sont dénommés **éléments fondamentaux**. Ils sont au nombre de six :

$$Ca^{2+},\ CO_3^{2-},\ HCO_3^-,\ H_2CO_3\ (CO_2\ \text{libre}),\ H_3O^+\ \text{et}\ OH^-.$$

Les autres ions qui n'interviennent dans les équilibres que par leur poids dans la balance ionique et agissent ainsi sur la force ionique et donc la valeur des constantes apparentes, sont appelés **éléments caractéristiques**. En règle générale, on considère les six ions suivants :

$$Mg^{2+},\ Na^+,\ K^+,\ SO_4^{2-},\ Cl^-\ \text{et}\ NO_3^-.$$

Dans certaines eaux, on peut trouver en quantité significative d'autres ions tels que les ions fluorure, les ions ferreux ou encore l'ammonium. Il convient, bien entendu, d'en tenir compte dans le calcul de la force ionique. Pour ce qui concerne la silice, elle n'est ionisée que si le pH est supérieur à environ 8,5. Il n'est donc pas souhaitable de prendre en compte la silice si le pH de l'eau est inférieur à cette valeur.

6.3.4 Relations entre les éléments fondamentaux – bases des représentations graphiques

On a vu précédemment que les éléments fondamentaux au nombre de six, sont liés par quatre relations d'équilibre en phase liquide (relations 1, 2, 3 et 4). Il est donc possible de représenter toutes les eaux présentant les mêmes concentrations en éléments fondamentaux et la même température sur un plan à deux dimensions. Le choix des axes est libre, pour autant que l'on ne prenne pas H_3O^+ et OH^- qui sont liés par une seule relation, comme le montre le montre la revue historique présentée précédemment.

Si l'on ajoute une des deux autres relations (5 ou 6) qui relie des espèces dissoutes avec un gaz ou un solide, le système n'a plus qu'un degré de liberté et peut être représenté par une courbe (courbe d'équilibre calcocarbonique ou courbe d'équilibre avec le CO_2 atmosphérique). Ces courbes d'équilibres se déplacent dans le plan lorsque les concentrations en éléments caractéristiques varient.

Si, enfin, on considère les 6 relations, le système se réduit alors à un seul point.

6.4 Détermination de l'agressivité ou du caractère entartrant d'une eau et utilisation des méthodes graphiques

On donnera ci-après des indications générales sur l'indice de LANGELIER puis on décrira la méthode graphique de HALLOPEAU et DUBIN et enfin celle de LEGRAND et POIRIER, plus récente.

6.4.1 Indice de LANGELIER

La méthode la plus simple pour le calcul de l'agressivité est la méthode de Langelier. Cet auteur a établi un indice Is, appelé **indice de saturation ou indice de Langelier**, égal à la différence entre le pH de l'eau considérée et son pH_s calculé :

$$Is = pH - pHs$$

L'eau est agressive si I_s est négatif, elle est calcifiante si I_s est positif et elle est à l'équilibre calcocarbonique si Is est nul.

Langelier propose une formule simple pour déterminer le pH d'équilibre (pH_s) :

$$pH_S = pK'_2 - pK'_S - \log[Ca^{2+}] - \log[HCO_3^-]$$

Dans cette formule pK'_2 et pK'_s dépendent de la température de l'eau et de sa force ionique. L'auteur propose un diagramme permettant de calculer ces constantes à partir du résidu sec et de la température. Ainsi, compte tenu de l'imprécision de l'évaluation de la force ionique à partir du résidu sec, il est préférable de recourir à des formules plus rigoureuses telles que celles qui sont utilisées par Legrand et Poirier par exemple.

6.4.2 Méthode de HALLOPEAU et DUBIN

Cette méthode permet de déterminer graphiquement l'agressivité d'une eau vis-à-vis du carbonate de calcium.

Le graphique d'HALLOPEAU et DUBIN (figure 1) utilise en abscisse le TAC (échelle logarithmique) et en ordonnée le pH. Y figurent aussi :

– Le CO_2 libre qui est représenté par un ensemble de courbes, assimilables à des droites ascendantes et parallèles,

– La courbe de saturation de référence (équilibre calcocarbonique) qui est une droite descendante,

– Le diagramme auxiliaire qui permet de modifier la position de la courbe de saturation en fonction de la température et de la valeur du rapport TAC/TCa,

– Les courbes de référence des traitements de neutralisation.

Connaissant le pH et l'alcalinité (TAC) d'une eau, on peut déterminer le CO_2 libre de cette eau. Le graphique permet de déterminer le point caractéristique de l'eau, à une température donnée. La concentration en CO_2 libre de l'eau est donnée par la droite oblique passant par le point figuratif de l'eau.

L'état calcocarbonique de l'eau est fonction de la position du point représentatif par rapport à la droite de saturation :

– S'il est situé au-dessous de cette droite, l'eau est agressive.

– S'il est situé au-dessus de cette droite l'eau est calcifiante.

Dans le cas présenté sur la figure 1 on a supposé que le TAC était égal au TH calcique (TCa).

Le pH de saturation se lit sur le graphique par l'ordonnée (pH) du point d'intersection de la droite de saturation de l'eau considérée avec la verticale du TAC de cette eau.

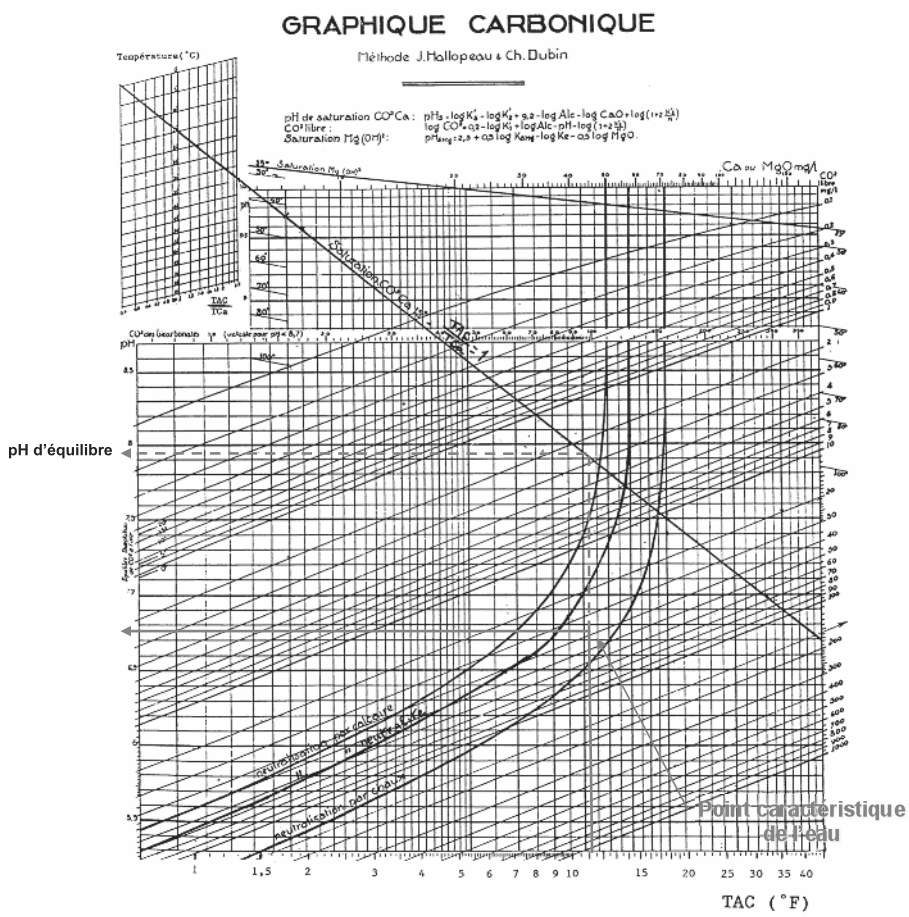


Figure 1 – Exemple de représentation graphique selon la méthode de HALLOPEAU et DUBIN

Cette méthode permet également de déterminer graphiquement les doses de réactifs de neutralisation (chaux, carbonate de calcium ou neutralite)

à mettre en œuvre à l'aide des courbes figurant sur le graphique. Pour connaître la dose de réactif, il convient de faire glisser horizontalement la courbe du réactif choisi jusqu'à ce qu'elle passe par le point figuratif de l'eau. La dose de réactif est déterminée par l'écart entre l'abscisse (TAC) du point représentatif et celle du point d'intersection de la courbe relative au réactif choisi avec la droite de saturation. Le pH final est donné par l'ordonnée de ce même point.

Il faut toutefois rappeler que la neutralisation par la soude n'a pas été figurée par les auteurs et si l'on assimile la soude à la chaux, on peut certes estimer la dose de réactif mais le pH d'équilibre donné par le graphique ne correspond pas exactement à la réalité.

Enfin, cette méthode ne prend en compte que les éléments fondamentaux, et même si les auteurs introduisent le rapport TAC/TCa qui peut intégrer la présence d'une partie des éléments caractéristiques, un risque d'erreur non négligeable peut résulter de cette hypothèse de calcul notamment lorsque l'eau étudiée est très minéralisée.

6.4.3 Diagramme de LEGRAND et POIRIER

Ces auteurs travaillent sur un système graphique dans lequel sont portées en abscisse la concentration en Ca^{2+} et en ordonnée la concentration en CO_2 total ou carbone minéral total (CMT) qui est la somme des concentrations des éléments carboniques (CO_2 libre, hydrogénocarbonate et carbonate) ; les concentrations étant exprimées en mmol. L^{-1}. Le CMT est un paramètre qui reste constant, tant que l'eau est en système fermé et qu'il n'y a pas d'échange avec une autre phase (précipitation de carbonates ou évasion de CO_2). Le point M figuratif de l'eau étudiée, a pour abscisse la concentration du calcium et pour ordonnée la concentration du CMT (figure 2).

Ils sont les premiers à distinguer les éléments fondamentaux et les éléments caractéristiques définis ci-dessus. Ils définissent aussi un terme lambda (λ) homogène au calcium et donc divalent qui est la demi-différence des sommes des anions ($N = 2\,[SO_4^{2-}] + [Cl^-] + [NO_3^-]$) et des cations ($P = 2\,[Mg^{2+}] + [Na^+] + [K^+]$) caractéristiques :

$$\lambda = \frac{N - P}{2}$$

La relation (4) de neutralité électrique peut ainsi se simplifier en ne laissant apparaître que les ions fondamentaux et le terme λ :

$$2[Ca^{2+}] + [H_3O^+] + P = [HCO_3^-] + [OH^-] + 2[CO_3^{2-}] + N$$

$$2 = 2[Ca^{2+}] + [H_3O^+] - [HCO_3^-] - [OH^-] - 2[CO_3^{2-}]$$

Or, le TAC a pour expression :

$$TAC = [HCO_3^-] + [OH^-] + 2[CO_3^{2-}] - [H_3O^+]$$

On en déduit que le terme λ peut aussi s'écrire :

$$\lambda = [Ca^{2+}] - \frac{TAC}{2}$$

On peut tracer une demi-droite SZ de pente 2 issue du point S d'abscisse λ. Cette demi-droite sépare le CMT de l'eau en deux parties, la partie inférieure correspond au TAC et la partie supérieure correspond au CO_2 libre (Figure 2).

D'autre part, ces auteurs utilisent des constantes apparentes (K') qui intègrent l'effet de la force ionique. Elles se calculent selon les formules suivantes :

$$pK'_1 = pK_1 -$$
$$pK'_2 = pK_2 - 2$$
$$pK'_e = pK_e -$$
$$pK'_s = pK_s - 4$$

Où ε est fonction de la force ionique μ : $\varepsilon = \frac{\sqrt{\mu}}{1+1,4\sqrt{\mu}}$

La force ionique s'exprime selon la formule $\mu = \frac{1}{2}\sum C_i V_i^2$

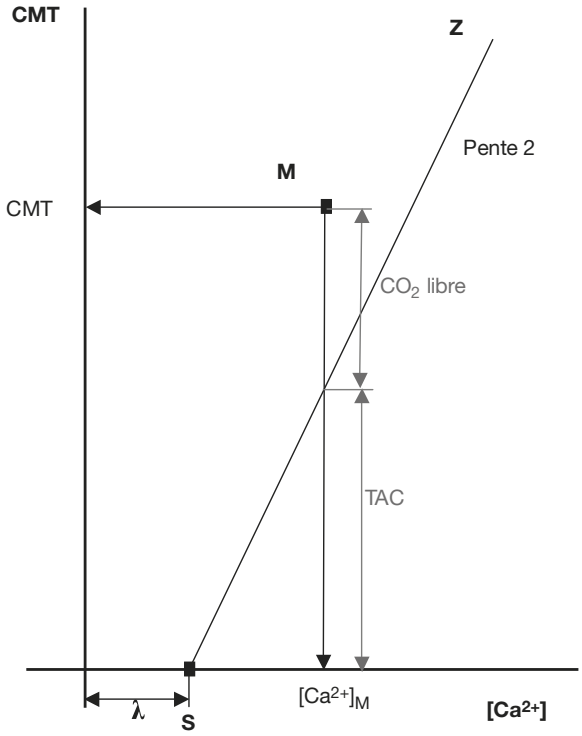


Figure 2 – Représentation graphique de Legrand et Poirier

Sur ce graphique on peut faire figurer la courbe (C) d'équilibre avec le carbonate de calcium ainsi que la courbe (Γ) d'équilibre avec le CO_2 présent dans la phase gazeuse (atmosphère par exemple) ; elles se coupent d'ailleurs en un point (T) qui est le point de stabilité de l'eau dans un système comportant une phase gazeuse de composition définie (figure 3).

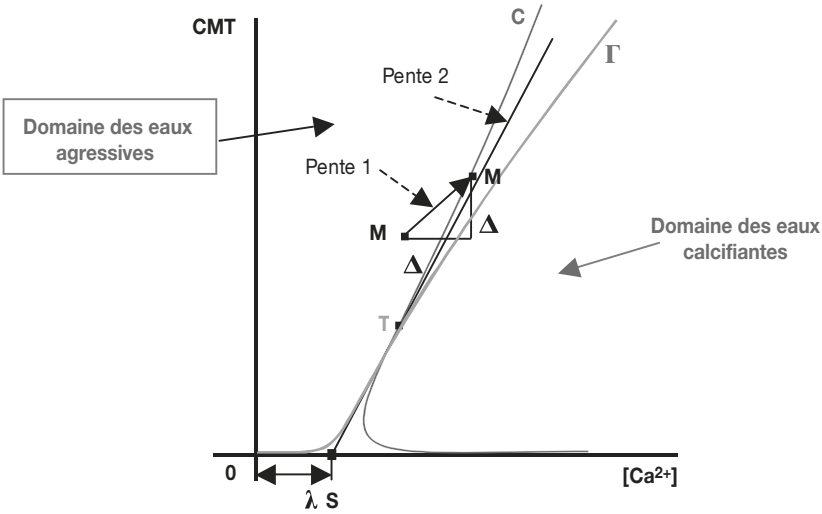


Figure 3 – Les courbes d'équilibre avec $CaCO_3$ (C) et avec le CO_2 gazeux ( )

La courbe C d'équilibre calcocarbonique sépare le plan en deux domaines :

– Le domaine des eaux agressives situé à gauche de la courbe.

– Le domaine des eaux calcifiantes situé à droite de cette courbe.

L'évolution de l'eau au contact de carbonate de calcium suit une droite de pente 1 étant donné que la dissolution de $CaCO_3$ dans une eau agressive (ou sa précipitation dans une eau calcifiante) entraîne un accroissement de la concentration (ou une diminution) du calcium égal à l'accroissement (ou la diminution) de la concentration du CMT (Figure 3).

La méthode développée par les auteurs est la plus complète car elle permet de figurer et de suivre l'évolution de l'eau tant au contact de carbonate de calcium qu'au contact d'une phase gazeuse (air atmosphérique notamment). Elle permet d'effectuer des calculs précis, mais elle nécessite de connaître non seulement les concentrations des éléments fondamentaux mais aussi celles des éléments caractéristiques. Cette contrainte permet néanmoins de s'assurer de la cohérence des résultats d'analyse par le calcul de la balance ionique.

Les calculs relativement complexes qui sont nécessaires à la détermination de l'état calcocarbonique de l'eau peuvent être réalisés automatiquement par voie informatique. Le logiciel LPLWIN développé en relation avec les auteurs et vendu par CIFEC (*) est le plus performant et permet d'effectuer :

(*) CIFEC, 12 bis rue du commandant PILOT 92200 Neuilly/Seine.

– la détermination du caractère agressif ou calcifiant d'une eau,

– des simulations de traitement.

Ce système graphique permet de suivre les évolutions de l'eau dans de très nombreuses configurations (variation de température, ajout de réactifs de traitement, etc.). Il permet aussi de figurer simplement les mélanges d'eaux du fait de l'utilisation de coordonnées arithmétiques.

Représentation de l'évolution de l'eau sous l'effet d'un traitement

1° Cas d'un traitement d'injection de chaux

Dans le graphique l'ajout de chaux se limite à une augmentation de la concentration en calcium de l'eau sans que la concentration en CMT ne soit modifiée. Ceci se traduit par un déplacement du point M figuratif de l'eau selon une horizontale (parallèle à l'axe des abscisses) jusqu'à la courbe C d'équilibre calcocarbonique (figure 4). L'eau M_1 qui figure l'eau après traitement est représentée légèrement calcifiante afin de permettre la formation de dépôt calcique protecteur.

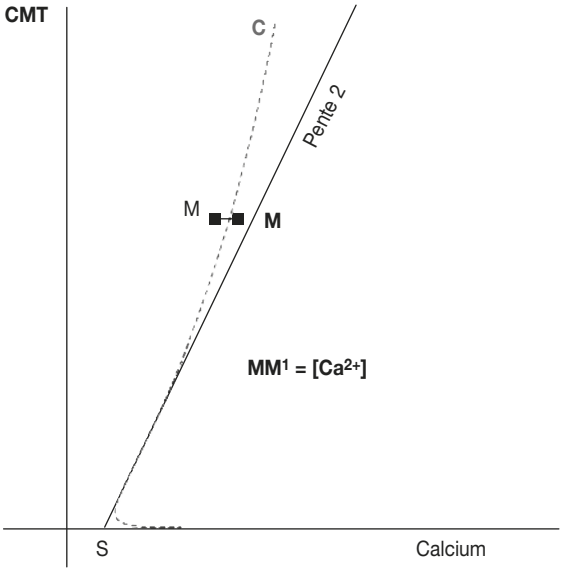


Figure 4 – Évolution de l'eau dans le graphique LPL sous l'effet d'un ajout de chaux

2° Cas d'un traitement d'injection de soude

Dans le graphique l'ajout de soude se traduit par une modification de la valeur de λ qui se quantifie de la façon suivante :

$$\lambda = \frac{N - P}{2}$$

L'ajout de sodium se traduit par une augmentation du terme P

$$\Delta P = [Na+]_{ajouté}$$

$$\text{D'où } \Delta(\lambda) = \frac{[Na+]_{ajouté}}{2}$$

Ainsi, les coordonnées du point M ne varient pas mais le point S d'abscisse λ se déplace vers la gauche ainsi que la courbe C d'équilibre calcocarbonique (Figure 5).

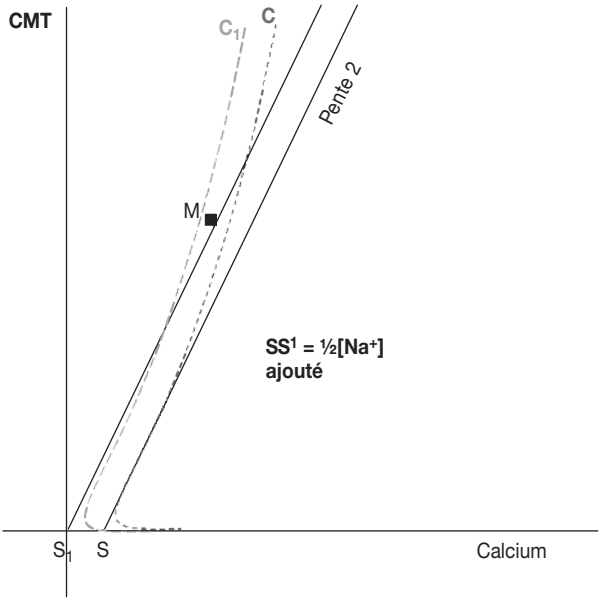


Figure 5 – Évolution de l'eau dans le graphique LPL sous l'effet d'un ajout de soude

3° Cas d'un ajout de sulfate d'aluminium

Après injection du sulfate d'aluminium, l'hydroxyde d'aluminium précipite et tout se passe comme si l'on avait introduit de l'acide sulfurique. Comme dans le cas de la soude, les concentrations du CMT et du calcium ne sont pas modifiées, le point figuratif de l'eau ne subit aucun déplacement.

Seule la valeur de λ qui est l'abscisse du point S est modifiée d'une quantité positive de valeur :

$$\Delta(\lambda) = [SO_4^{2-}]_{ajouté}$$

$[SO_4^{2-}{}_{ajouté}]$ est exprimé ici en $mM.l^{-1}$.

La courbe d'équilibre calcocarbonique se déplace avec le point S vers la droite ce qui conduit à rendre agressive une eau initialement calcifiante.

Visualisation du mélange d'eaux

Un des avantages de cette représentation graphique est de pouvoir visualiser très facilement le mélange d'eaux. En effet, compte tenu des coordonnées linéaires du graphique, on peut représenter et simuler sur le graphique le mélange de deux ou plusieurs eaux.

Soit deux eaux représentées en M_1 et M_2. Elles sont caractérisées par leurs concentrations en calcium, leurs CMT et leurs valeurs de λ.

Eau	Calcium	CMT	Lambda	Proportion dans le mélange
M_1 :	$[Ca^{2+}]_1$	CMT_1	λ_1	x
M_2 :	$[Ca^{2+}]_2$	CMT_2	λ_2	y

Le point figuratif de l'eau M_3 résultant du mélange aura les coordonnées suivantes :

$$M_3 : [Ca^{2+}]_3 = x.[Ca^{2+}]_1 + y.[Ca^{2+}]_2$$

$$[CMT]_3 = x.[CMT]_1 + y.[CMT]_2$$

La valeur de λ associé à cette eau aura pour expression :

$$_3 = x._1 + y._2$$

La figure 6 montre le mélange de deux eaux avec les courbes d'équilibres associées. On peut noter que le mélange de deux eaux à l'équilibre calco-carbonique, conduit à une eau agressive.

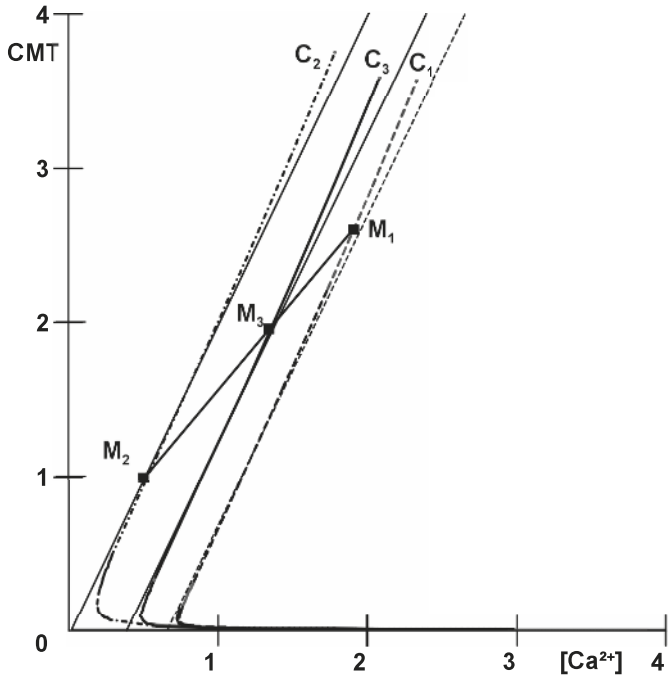


Figure 6 – Visualisation du mélange de deux eaux dans le graphique LPL

7 • CATIONS ET ANIONS

Cette partie intitulée « Cations et Anions » (sous entendu minéraux ou inorganiques) du chapitre « Analyses physico-chimiques des eaux naturelles » est importante à plusieurs points de vue.

Les eaux douces, qu'elles soient d'origine souterraine ou superficielle sont plus ou moins minéralisées par des sels naturels. Il est souvent très important de connaître précisément cette minéralisation en plus des indications données par les paramètres globaux de type « titre » et « potentiel ». Par ailleurs, certains des cations et anions minéraux naturels présents dans les eaux sont considérés comme indésirables ou toxiques selon l'usage auquel l'eau douce est destinée (domestique, agricole, industriel, santé, tourisme, refroidissement…). Ces anions et cations sont généralement présents à des concentrations très variables, de l'ordre de quelques ppb ou dizaines de ppb (comme par exemple, l'arsenic, le sélénium, le manganèse, le fer, etc.) à plusieurs dizaines ou centaines de ppm (comme par exemple le calcium, le magnésium, les carbonates, les fluorures, etc.).

Le deuxième aspect est du domaine de la quantification de la pollution minérale, puisque d'autres anions et cations d'origine anthropique (issus de la pollution des eaux par les rejets de différentes formes) sont également parfois (trop) présents dans les eaux naturelles. Les cas des nitrates, nitrites et phosphates sont bien connus, il s'agit ici de plusieurs ppm ou dizaines de ppm. Mais de très nombreux autres cations, dont les métaux lourds, peuvent être également présents, à l'échelle du ppb ou moins (comme par exemple le mercure, le cadmium, le cobalt, le chrome, etc.).

Enfin, d'autres paramètres minéraux, également en faible concentration, peuvent être issus du traitement et de la distribution de l'eau potable qu'il est nécessaire d'analyser pour le contrôle sanitaire (comme par exemple, les bromates, les chlorites, le plomb, etc.).

Ce chapitre aurait donc très bien pu être planifié en fonction de l'origine des cations et anions (naturels, anthropiques) ou de leur danger potentiel (non gênants, indésirables, toxiques), ou encore en fonction des usages (eau potable, thermalisme, irrigation, industrie, etc.), voire en fonction des ordres de grandeur de concentration ou des techniques instrumentales utilisées (différentes méthodes spectrométriques, chromatographie, potentiométrie, etc.).

Le plan choisi est par ordre alphabétique, anions et cations confondus. Toutefois, en début de chapitre, un paragraphe (§A-7.1) est consacré aux méthodes instrumentales, paragraphe auquel le lecteur est évidemment très souvent invité à se reporter. Chaque paragraphe consacré à un paramètre se termine par la ou les méthodes de références AFNOR. Une bibliographie (non exhaustive mais utile) est, quant à elle, mentionnée en fin de partie A, paramètre par paramètre.

Remarques importantes

– Les méthodes indiquées s'appliquent aux cations et anions dissous ou en solution après minéralisation. Le lecteur pourra se reporter au chapitre D et aux normes AFNOR correspondantes pour appliquer les méthodes indiquées aux espèces en suspension et/ou aux sédiments.

– Sauf dans quelques cas particuliers, les méthodes indiquées ne permettent d'analyser que globalement le cation ou l'anion considéré, quelles que soient les espèces (ou formes) présentes en solution. En effet, il ne faut pas oublier que certains anions présentent des espèces (ou formes) acide et base, comme les carbonates, silicates, borates, sulfites, etc., et que certains cations présentent des espèces (ou formes) réduites et oxydées, comme le fer, le manganèse, le chrome, etc. Par ailleurs, tous les cations dans l'eau sont plus ou moins complexés à des ligands OH ou autres anions minéraux ou organiques, fonction notamment du pH de l'eau, de son potentiel d'oxydo-réduction, de sa teneur en composés organiques et minéraux divers. Cette partie « Cations et Anions » n'aborde absolument pas la spéciation des éléments inorganiques dans les eaux naturelles. Certains ouvrages traitant de ce sujet sont cités dans la bibliographie finale.

7.1 Méthodes instrumentales pour l'analyse des cations et des anions

■ Préambule

Les méthodes instrumentales sont d'une utilisation courante pour l'analyse des eaux. Pour un grand nombre de dosages, elles ont remplacé les méthodes gravimétriques et titrimétriques. Les conditions de leur utilisation ayant été précisées et les appareillages s'améliorant constamment, il est possible d'obtenir des résultats analytiques dont la précision ne le cède en rien aux méthodes classiques.

Ainsi, la spectrométrie d'absorption moléculaire (colorimétrie) est la première méthode qui a facilité l'analyse hydrologique. L'emploi de nombreux réactifs organiques pour le développement des réactions colorées a permis un accroissement tant de ses possibilités que de sa sensibilité. Bénéficiant de nombreuses années d'expérience, applicable à de nombreuses substances, elle est devenue d'utilisation courante dans l'analyse de l'eau. La mise au point de chaînes automatiques d'analyse spectrométrique, dont les réalisations commerciales sont nombreuses et variées, a permis de développer encore les moyens du travail en série et d'étendre le domaine des applications de la méthode avec l'analyse en flux continu.

Cependant, beaucoup d'éléments, en particulier ceux possédant une toxicité, ne se retrouvent dans l'eau qu'à des teneurs très faibles, d'où l'intérêt de méthodes complémentaires pour le dosage des traces.

La spectrométrie d'émission de flamme a eu le grand avantage de permettre le dosage des métaux alcalins et alcalinoterreux comme le sodium, le potassium, le strontium et le lithium. Plus précise, plus simple elle est surtout plus rapide que les méthodes classiques comportant de longues manipulations susceptibles d'introduire des erreurs importantes.

La spectrométrie d'absorption atomique avec ou sans flamme a très remarquablement étendu les possibilités des méthodes précédentes, tant pour les éléments prédominants dans l'eau comme le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium, que pour ceux susceptibles d'être rencontrés à l'état de traces comme le chrome, le cuivre, le fer, le manganèse, le zinc, le lithium, etc. Cette technique séduisante par sa sensibilité et sa rapidité s'est répandue en fonction des améliorations des caractéristiques des appareillages et de l'adaptation de leur prix de revient. La spectrométrie à l'aide d'un générateur inductif de plasma (ICP) introduit une plus grande sensibilité et permet de doser plusieurs éléments dans le même échantillon, simultanément ou séquentiellement. Son couplage avec la spectrométrie de masse (ICP) lui confère une grande sensibilité et élargit encore son potentiel analytique.

Les électrodes ioniques spécifiques de certains anions et cations dont on rencontre dans le commerce une assez grande variété, apportent quelques possibilités analytiques caractérisées essentiellement par leur rapidité d'emploi. En particulier, ce matériel facilite les contrôles en série sur des échantillons pour lesquels on veut suivre l'évolution de la teneur d'un élément considéré.

Il n'entre pas dans le cadre de cet ouvrage de décrire d'une façon détaillée toutes les méthodes physiques d'analyse dont les éléments théoriques et descriptifs sont développés dans de nombreux traités spéciaux auxquels le lecteur voudra bien se reporter s'il le juge nécessaire. Notre but est d'en rappeler brièvement le principe et le domaine d'application pour éclairer le choix des méthodes et, le cas échéant, pour faciliter le dialogue entre l'hydrologue et le laboratoire.

Le dosage des concentrations totales d'un élément fourni par l'ensemble de ces analyses ne donne pas toujours une information suffisamment précise sur la forme chimique dans laquelle se trouve cet élément, rendant difficile une évaluation des risques sur la santé ou la prévision des impacts environnementaux. Seule la spéciation, qui permet de doser et d'identifier les différentes formes chimiques d'un élément, peut fournir cette précision. Cette approche de spéciation ne sera pas abordée dans ce chapitre.

Étant donné le niveau de sensibilité atteint par l'ensemble de ces méthodes, il est impératif de s'assurer que tous les réactifs utilisés soient de qualité analytique prouvée pour ne pas introduire de contamination et nuire à la précision des méthodes. L'eau déionisée sera en général de qualité ultrapure.

7.1.1 Spectrométrie d'absorption moléculaire (absorption des radiations lumineuses de l'UV et du visible)

■ Principe

Quand un rayonnement d'une longueur d'onde donnée λ traverse un milieu, son intensité diminue en fonction de la densité des espèces absorbantes et de l'épaisseur du milieu.

Cette propriété est utilisée pour déterminer la concentration des espèces chimiques absorbant à une longueur d'onde déterminée.

C'est l'interaction entre les photons de la source lumineuse et les ions ou molécules de l'échantillon qui provoque l'absorption lumineuse.

Lois de la spectrométrie

L'atténuation d'un faisceau lumineux monochromatique s'exprime par sa transmittance T (ou pourcentage de transmission), définie comme le rapport entre l'intensité lumineuse transmise (I) et l'intensité incidente (I_0) :

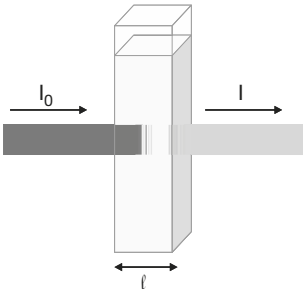
$$T = \frac{I}{I_0}$$

On définit également l'absorbance A par :

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I}$$

Pour un rayonnement monochromatique de longueur d'onde λ, la loi de BEER-LAMBERT établit une proportionnalité entre la concentration C d'une entité chimique en solution, sa nature chimique (caractérisée par son coefficient d'extinction molaire ε), son absorbance A et la longueur du trajet parcouru par la lumière dans la solution (trajet optique ℓ) :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon_\lambda \ell C$$



A = Absorbance (ou densité optique) à une longueur d'onde λ (A est sans unité)

I_0 = intensité du faisceau lumineux monochromatique incident

I = intensité du faisceau lumineux émergent

ℓ = longueur du trajet optique (en cm), qui correspond à l'épaisseur de la cuve de mesure

C = concentration molaire de l'entité absorbante dans la solution (en mol. L^{-1})

ε_λ = coefficient d'absorption molaire de la substance en solution (en L. $mol^{-1}.cm^{-1}$) à la longueur d'onde λ considérée

Le coefficient d'absorption molaire ε_λ dépend de la longueur d'onde λ, de la nature chimique de l'entité, du solvant et de la température. Sa valeur est généralement exprimée au maximum d'absorption du composé.

À une longueur d'onde donnée λ, l'absorbance A d'un mélange de *n* espèces absorbantes est la somme des absorbances individuelles des *n* constituants du mélange. Cette propriété est dite loi d'additivité des densités optiques.

$$A = \sum_{i=1}^{n} Ai(\varepsilon_{\lambda,i}, \ell, Ci).$$

Application de la loi de BEER-LAMBERT à l'analyse quantitative d'espèces chimiques

La loi de BEER-LAMBERT indique que l'absorption de la lumière est proportionnelle à la concentration de l'espèce absorbante. La spectrométrie consiste à mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée pour en déduire sa concentration. Cette absorbance est déterminée à l'aide d'un spectromètre, réglé à la longueur d'onde spécifique. La réalisation préalable d'une courbe d'étalonnage ou droite d'étalonnage (détermination de l'absorbance de solutions de concentrations connues et tracé de la courbe A = f ([C]) permet alors de déterminer la concentration de l'espèce dans la solution, et si on le souhaite, le coefficient d'extinction molaire ε de la substance absorbante.

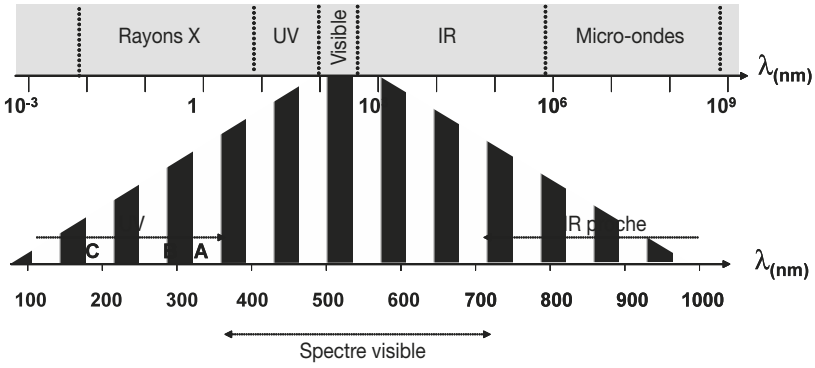
La longueur d'onde λ mise en œuvre dépend des caractéristiques de la substance chimique concernée par l'absorption. Elle se détermine généralement par le tracé du spectre d'absorption de la substance considérée et par le choix de la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption (λ_{max}) ou d'une valeur proche de ce maximum en cas de risque d'interférences d'autres substances.

Le domaine d'application de la loi de BEER-LAMBERT et donc de la spectrométrie concerne essentiellement :

– certaines substances colorées (ou chromophores), qui absorbent dans le domaine du spectre visible (λ comprises entre 380 nm et 750 nm environ) et permettent un dosage spectrométrique que l'on peut qualifier de colorimétrique. De nombreux dosages appliquent la colorimétrie, soit directement sur des substances colorées, mais le plus souvent après une réaction de l'élément à doser avec un réactif qui conduit à la formation d'une substance colorée, susceptible d'un dosage colorimétrique.

– des substances qui absorbent spécifiquement dans l'ultraviolet (λ comprises entre 200 et 380 nm) et permettent des dosages à l'aide de la spectrométrie UV.

La place de ces radiations dans le spectre de la lumière est présentée sur le schéma ci-dessous, qui balaie dans sa partie supérieure les principales radiations utilisées dans le domaine de la chimie (des rayons X aux micro-ondes) et un zoom en partie inférieure détaille la gamme 100 à 1 000 nm, où se situe le domaine de la spectrométrie UV et visible (200 à 800 nm).



Limites de validité de la loi de BEER-LAMBERT

Pour chaque substance chimique absorbante, on peut déterminer empiriquement le domaine de validité de la loi de BEER-LAMBERT et plusieurs facteurs peuvent limiter la validité de cette loi.

Ainsi, des concentrations élevées en substances absorbantes provoquent des phénomènes de réfraction du faisceau incident et diminuent l'absorbance mesurée. On sort alors du domaine de linéarité de la loi. Une dilution de la solution permet de remédier à ce problème.

La présence de particules en suspension provoque également des interférences (par diffusion, diffraction, réflexion) et fausse la mesure. Une filtration des échantillons non limpides est souvent nécessaire, voire même indispensable en spectrométrie UV.

Matériel nécessaire

La gamme d'appareillages commercialisés est très étendue. Les matériels les plus simples pourront faire appel à une simple colorimétrie visuelle (comparateurs visuels ou tests avec bandelettes colorées), alors que des systèmes très sophistiqués intègrent des possibilités multiples avec l'acquisition des spectres, le tracé des courbes d'étalonnage, la détermination directe des concentrations, voire même l'analyse multicomposants à l'aide d'outils logiciels.

Selon le dosage à réaliser, la précision souhaitée, le lieu d'utilisation (terrain ou laboratoire) plusieurs types d'appareillages pourront être mis en œuvre.

L'appareillage le plus classique demeure le spectromètre (visible, UV, ou UV-visible), qui se compose :

– d'une source lumineuse : le plus souvent une lampe à incandescence à filament de tungstène (ou encore une lampe à arc xénon) pour le domaine visible et une lampe à arc au deutérium pour l'UV,

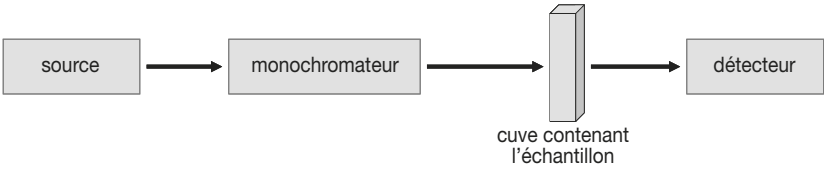
– d'un système dispersif (souvent un monochromateur) qui permet d'obtenir un rayonnement monochromatique et permet d'envoyer dans la cellule contenant l'échantillon un faisceau parallèle ou d'ouverture optique très faible,

– d'un détecteur (de type photodiode ou photomultiplicateur), qui fournit une tension électrique proportionnelle ou inversement proportionnelle à l'intensité du rayonnement,

– d'une cuve de mesure où se trouve l'échantillon,

– et dans le cas d'un appareil à optique double faisceau, une cuve de référence qui permet de réaliser un « blanc » (zéro de l'appareil) et qui contient en général le solvant (eau distillée) ou une solution dont la matrice est identique à celle des échantillons, mais sans la molécule soumise à l'analyse (généralement l'eau distillée, additionnée ou non des réactifs propres au dosage réalisé).

Le schéma ci-dessous illustre la configuration d'un spectromètre monocanal à optique monofaisceau.



Les cuves de mesure utilisables dans le domaine du spectre visible peuvent être en verre optique réutilisables ou en matériau plastique à usage unique. Par contre, dans le

domaine UV, seules les cuves en quartz sont utilisables, le verre absorbant lui-même fortement dans l'UV. Le trajet optique peut varier, le plus souvent entre 0,5 et 10 cm dans les spectromètres de laboratoire, mais souvent plus faible dans les cellules de mesure de certains détecteurs (chromatographie par exemple).

Des appareils à comparaison visuelle, permettent sur le terrain, d'obtenir des résultats satisfaisants grâce à l'utilisation de disques ou de bandes colorés, dont l'intensité de la coloration sera comparée à l'échantillon.

Des appareillages plus sophistiqués de type multicanaux permettent l'observation simultanée de toute l'étendue du spectre UV et/ou visible.

Mode opératoire

Relation linéaire entre l'absorbance à une longueur d'onde donnée et la quantité de substance absorbant à cette longueur d'onde, la loi de BEER-LAMBERT autorise des déterminations quantitatives, à condition de déterminer précisément la longueur d'onde convenable et de pratiquer un étalonnage à l'aide de la substance chimique concernée par cette absorbance.

Détermination de la longueur d'onde à utiliser

Les méthodes de dosage spectrométrique utilisées précisent généralement la longueur d'onde optimale d'absorption de l'élément concerné par ce dosage. Si tel n'est pas le cas, il suffit de tracer le spectre d'absorption d'une solution de l'élément concerné pour choisir la longueur d'onde de travail. Cette longueur d'onde est en général choisie au maximum d'absorption de l'espèce à doser afin d'obtenir la sensibilité maximale (λ_{max}).

Formation de la substance susceptible d'un dosage spectrométrique

Un composé qui n'absorbe pas la lumière peut faire l'objet d'un dosage spectrométrique si on peut le transformer (par une réaction préalable) en un dérivé possédant un chromophore utilisable en spectrométrie :

Élément à doser + réactif → substance analysable par spectrométrie
(présence d'un chromophore)

Mesure des absorbances

Toutes les absorbances sont mesurées, à la longueur d'onde définie, par rapport à un « blanc » (cuve de mesure contenant généralement l'eau déionisée, additionnée ou non des réactifs propres au dosage réalisé). Cet essai à blanc permet de ne pas tenir compte de l'absorption due à la cuve elle-même et au solvant utilisé (et éventuellement aux réactifs mis en œuvre lors du dosage).

Tracé de la courbe d'étalonnage

On prépare plusieurs concentrations connues de la molécule à doser, qui seront traitées comme les échantillons. Ils sont introduits dans la cuve de mesure du spectromètre pour la mesure de l'absorbance.

L'absorbance A étant proportionnelle à la concentration C des molécules de l'espèce qui absorbe à une longueur d'onde λ donnée, le tracé de la courbe d'étalonnage A = f ([C]) permet de déterminer le domaine de linéarité de la méthode et la pente de la droite. C'est dans la gamme de concen-

tration correspondant à ce domaine de linéarité, qu'il sera préférable de se placer pour l'analyse des échantillons.

Cette droite d'étalonnage permet également le calcul de ε, le coefficient d'extinction molaire de la substance concernée. Ce coefficient est caractéristique de la substance colorée à la longueur d'onde définie et dépend de la température de mesure.

Analyse de l'échantillon

L'absorbance de l'échantillon est mesurée (après la réaction convenable, si nécessaire). Elle permettra à l'aide de la droite d'étalonnage, d'accéder à la concentration C de l'élément concerné.

■ Expression des résultats

Dans le cas d'une détermination par référence à une courbe d'étalonnage, la teneur de l'élément à doser s'exprimera en concentration massique ou molaire. Par contre s'il s'agit d'une simple mesure d'absorbance (par exemple en UV), l'absorbance sera exprimée en cm^{-1}. En effet, l'absorbance est en théorie une mesure adimensionnelle, mais il est d'usage de prendre comme référence une cuve possédant un trajet optique de 1 cm, et donc de diviser la valeur d'absorbance mesurée par l'épaisseur de la cuve de mesure utilisée (le plus souvent comprise entre 0,5 et 10 cm). L'absorbance s'exprimera donc dans la pratique en cm^{-1}.

7.1.2. Analyse en flux

Développée dès la fin des années 50 par la Technicon Corporation, la technique d'analyse en flux a été largement utilisée dès les années 70 pour l'analyse d'anions et de cations dans les eaux et de nombreuses méthodes de référence étaient publiées, en particulier aux USA dans les *STANDARD METHODS for the Examination of Water and Wastewater*, 14e, 15e et 16e éditions (1976, 1981 et 1985) et dans les éditions suivantes. D'autant que depuis 1980 de nombreuses sociétés ont développé des systèmes d'analyse automatique et adapté des protocoles analytiques pour des applications toujours plus nombreuses, avec des fréquences analytiques pouvant atteindre plusieurs dizaines d'échantillons par heure.

L'intérêt de ces méthodes d'analyse en flux est multiple. Parallèlement à une augmentation des cadences analytiques, l'automatisation des modes opératoires a permis de réduire les coûts d'analyse (quantités de réactifs mis en œuvre – frais de personnel), tout en minimisant les erreurs et en optimisant les conservations des réactifs.

■ Définitions

L'analyse en flux peut être pratiquée selon deux principes distincts :

– L'analyse avec injection en flux continu (*Flow Injection Analysis* ou FIA), dans lequel l'échantillon est injecté dans un fluide en mouvement (fluide transporteur ou fluide vecteur) et se déplace de façon continue, sans segmentation. Une variante est l'analyse à injection séquentielle (*Sequencial Injection Analysis* ou SIA), beaucoup plus récente, qui nécessite la mise en œuvre d'un mélange par inversion de flux et donc une pompe bidirectionnelle.

– L'analyse en flux continu (*Continuous Flow Analysis* ou CFA), encore appelé analyse en flux segmenté (*Segmented Flow Analysis* SFA) ou analyse par injection séquentielle (*Sequencial Flow Analysis* SFA), dans laquelle le flux continu est segmenté par des bulles d'air ou un autre gaz de segmentation.

Dans l'analyse en flux continu (CFA), qui est la méthode la plus ancienne, l'intérêt de la segmentation est de favoriser le mélange en créant des turbulences et de constituer une barrière pour limiter la contamination entre les échantillons. Mais le passage dans le détecteur nécessite le plus souvent une étape préalable de dégazage.

■ Principes

Les deux systèmes possèdent des technologies instrumentales communes, caractérisées par :

– un mode de transport des échantillons dans des tubes calibrés, grâce à une pompe de propulsion (généralement de type péristaltique), assurant un débit constant,

– un mode de traitement des échantillons pendant l'écoulement avec la mise en œuvre de diverses réactions chimiques, qui se déroulent toutes dans le même flux, dans des réacteurs, des chambres de mélange ou dans des tubes enroulés en spirales, le réactif pouvant être injecté à débit constant (défini par le choix du diamètre du tube calibré installé sur la pompe) par la même pompe péristaltique que l'échantillon (pompe multi-canaux)

– une unité de dosage automatique du produit de réaction (détecteur à flux).

Tous les éléments du dispositif sont reliés entre eux par des tubes de petit diamètre (diamètre intérieur = 0,5 à 2 mm), dont le matériau doit être compatible avec les réactifs mis en jeu (Téflon, PVC…). La longueur de ces composants du dispositif permet d'ajuster les temps de contact entre les réactifs.

L'ensemble du dispositif constitue un réacteur souvent appelé « manifold », (terme anglo-saxon sans équivalence en français), que nous représenterons dans les différentes méthodes sous le terme de « dispositif d'analyse » ou de « schéma d'utilisation ». Il peut inclure une unité de traitement de l'échantillon avant analyse ou à différents stades de cette analyse dans le but de rendre viables certaines étapes du dosage ultérieur (par exemple chauffage, dialyse, échange d'ions, extraction, distillation).

La chronologie des étapes peut s'écrire comme suit :

– injection d'un volume défini de l'échantillon dans le flux, le plus souvent par voie hydrodynamique (aspiration par une pompe), mais parfois par vanne d'injection,

– mise en jeu d'une ou plusieurs réactions chimiques, grâce à des réacteurs pour former une entité détectable par un détecteur convenable,

– détection de l'entité,

– enregistrement et traitement des données.

L'ensemble peut être piloté manuellement, mais l'appareillage est de plus en plus souvent piloté dans sa totalité par un micro-ordinateur.

Processus réactionnels mis en jeu

Les réacteurs utilisés pour l'analyse en flux reproduisent les protocoles et la chronologie des étapes de très nombreuses réactions chimiques et permettent de former l'entité qui pourra être détectée et quantifiée avec un détecteur approprié. Plusieurs réactifs peuvent être introduits simultanément ou successivement dans le dispositif à flux, en assurant les temps de contact (durées de circulation) nécessaires entre les différents réactifs.

Modes de détection

De nombreux systèmes d'analyse en flux reposent sur une détection spectrométrique (UV ou visible), mais d'autres modes de détection sont également mis en œuvre en chimie analytique : fluorimétrie, photométrie de flamme, absorption atomique, potentiométrie, ampérométrie…

Dans le cas le plus habituellement rencontré de la spectrométrie visible, les composés colorés préalablement formés dans le dispositif d'analyse en flux, sont détectés par le spectromètre, réglé à la longueur d'onde convenable (en général le maximum d'absorbance de l'entité concernée), et quantifiés par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec des solutions de concentrations connues de cette même entité.

Domaines d'applications

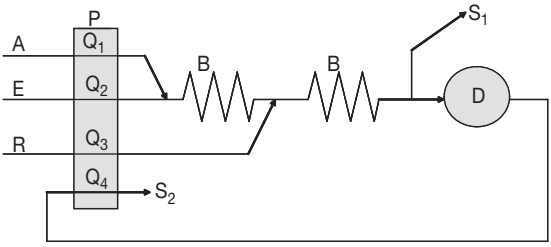
Il est impossible de décrire ici toutes les possibilités d'applications analytiques de ces procédés d'analyse en flux, mais les schémas suivants illustrent 2 exemples de processus mis en jeu. Le premier schéma représente un dispositif CFA avec l'injection d'un seul réactif, alors que le second décrit un dispositif FIA avec l'injection de 3 réactifs, les réactifs R_2 et R_3 étant introduits simultanément et mélangés avant de rejoindre l'échantillon déjà additionné du réactif R_1. Cette possibilité d'utilisation de plusieurs lignes de réactifs permet de reproduire de très nombreuses procédures analytiques complexes et confère à cette technique d'analyse en flux des domaines d'application très étendus.

Dans les deux cas présentés ci-dessous, la pompe péristaltique utilise 4 canaux, chacun d'eux étant muni d'un tuyau calibré dont le diamètre a été choisi en fonction des volumes respectifs de réactifs nécessaires au bon déroulement de la réaction visée.

De même, les bobines de mélange peuvent présenter des diamètres intérieurs et des longueurs variables, pour assurer le mélange et le temps de contact adapté à la méthode choisie, et certaines peuvent être équipées d'enceintes chauffantes thermostatées ou encore d'unités réfrigérantes.

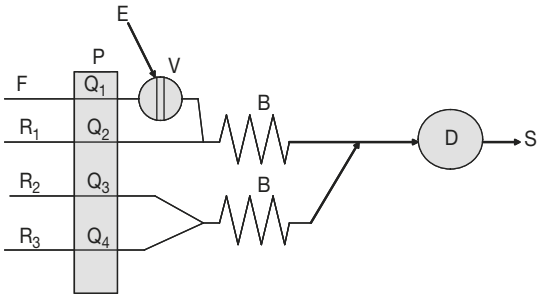
Quant à l'échantillon, son mode d'injection peut faire appel à la seule pompe péristaltique (premier schéma) ou à une vanne d'injection balayée par le fluide vecteur, cette vanne étant éventuellement couplée à un dispositif d'injection automatique (passeur d'échantillons).

Dispositif CFA
(Continuous Flow Injection)
avec addition d'un seul réactif



A Air
E Échantillon
R Réactif
P Pompe péristaltique avec tuyaux calibrés (débits Q_1 à Q_4)
B Bobine de mélange
D Détecteur
S_1 Effluent de dégazage
S_2 Effluent de sortie

Dispositif FIA
(Flow Injection Analysis)
avec addition de trois réactifs



F Fluide vecteur (eau)
V Vanne d'injection
E Échantillon
R_1, R_2, R_3 Réactifs
P Pompe péristaltique avec tuyaux calibrés (débits Q_1 à Q_4)
B Bobine de mélange
D Détecteur
S Effluent de sortie

Enfin, tel qu'indiqué précédemment, ces dispositifs peuvent intégrer de nombreux appareillages annexes, mis à profit pour séparer certains constituants et améliorer ainsi la sélectivité et/ou la reproductibilité de la méthode.

Remarques

– L'utilisation de ces dispositifs requiert des précautions spécifiques et il est important de suivre scrupuleusement les indications du fabricant en particulier pour le conditionnement de l'appareillage avant utilisation (stabilisation de la ligne de base, choix de la gamme de mesure, réglage de la sensibilité, étalonnage, essais à blanc…), pour son mode de rinçage après usage et pour ses conditions de mise à l'arrêt.

– Tous les tubes de circulation et les raccords utilisés doivent être en matériau inerte vis-à-vis des réactifs utilisés et d'un diamètre compatible avec les autres organes du dispositif.

Méthodes de référence

NF EN ISO 13395. Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique. Octobre 1996.

NF EN ISO 11732. Qualité de l'eau – Détermination de l'azote ammoniacal par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique. Août 2005.

NF EN ISO 15682. Qualité de l'eau – Dosage des chlorures par analyse en flux (CFA et FIA) et détection photométrique ou potentiométrique. Décembre 2001.

NF EN ISO 16264. Qualité de l'eau – Dosage des silicates solubles par analyse en flux (FIA et CIA) et détection photométrique. Août 2004.

NF EN ISO 14403. Qualité de l'eau – Dosage des cyanures totaux et des cyanures libres par analyse en flux continu. Août 2002.

7.1.3 Chromatographie ionique (CI)

La chromatographie ionique (CI) trouve un domaine d'application très étendu pour l'analyse des ions dans les eaux. Les systèmes commerciaux développés à ce jour se révèlent très fiables, très précis et d'utilisation relativement simple. Mais une configuration analytique donnée ne permet de doser qu'un nombre limité de composés ioniques dans une gamme de concentration définie. Elle est adaptée à l'analyse des anions et des cations.

Nous résumerons dans ce paragraphe les principes généraux de cette technique, puis nous présenterons les méthodes utilisées pour l'analyse des eaux et permettant la quantification, avec des limites de détection variant entre 0,01 et 0,1 mg/L :

– de 12 anions : bromure, chlorate, chlorite, chlorure, fluorure, iodure, nitrate, nitrite, orthophosphate, sulfate, thiocyanate et thiosulfate,

– et de 9 cations : ammonium, baryum, calcium, lithium, magnésium, manganèse, potassium, sodium et strontium.

■ Principes généraux et mise en œuvre de la chromatographie ionique

La chromatographie ionique ou chromatographie des ions en phase liquide est un procédé apparenté à la chromatographie liquide haute performance (CLHP) mais elle possède des particularités notables principalement au niveau de la séparation et des modes de détection.

Principe

La chromatographie est un procédé physicochimique qui permet la séparation des constituants d'un mélange. Le principe de séparation repose sur la distribution des solutés entre 2 phases non miscibles : une phase stationnaire contenue dans une colonne sous forme d'un solide finement divisé et une phase mobile qui traverse cette colonne et entraîne l'échantillon contenant le mélange à analyser.

La phase mobile (ou éluant) tend à entraîner les espèces à séparer alors que la phase stationnaire tend à les ralentir par la mise en jeu d'interactions diverses. Les solutés sont injectés à une extrémité de la colonne et détectés en sortie de colonne par un détecteur approprié. Ils sont identifiés par le temps mis pour parcourir la longueur de la colonne (temps de rétention).

Dans le cas de la chromatographie ionique (CI), le procédé physicochimique utilisé pour la séparation des ions est l'échange d'ions. Le mécanisme de cette séparation par échange d'ions repose sur une compétition entre des ions de même charge présents respectivement dans l'échantillon et dans la phase mobile vis-à-vis du groupement fonctionnel de la phase stationnaire de charge opposée.

La phase stationnaire comporte en surface des sites ionisables (et échangeables, de type échangeurs d'ions) et la phase mobile est une solution aqueuse de sels contenant l'ion appelé « ion développeur », qui entre en compétition avec les ions de même charge de l'échantillon pour l'échange ionique sur les sites échangeables de la phase stationnaire. Ces échanges assurent la séparation des ions présents dans l'échantillon, le composé étant d'autant mieux retenu par la phase stationnaire que la charge qu'il porte est élevée.

Ce procédé est particulièrement adapté à la séparation des ions en solution (anions ou cations).

À l'issue de la séparation, la détection des espèces est assurée par un détecteur adapté (souvent conductimétrique). La quantification s'effectue grâce à la réalisation d'une gamme d'étalonnage, chaque espèce étant détectée sous la forme d'un pic sensiblement gaussien dont l'aire est proportionnelle à la quantité injectée.

L'utilisation de détecteurs spécifiques permet d'accéder au domaine de l'analyse de traces.

Mécanisme de la séparation des ions

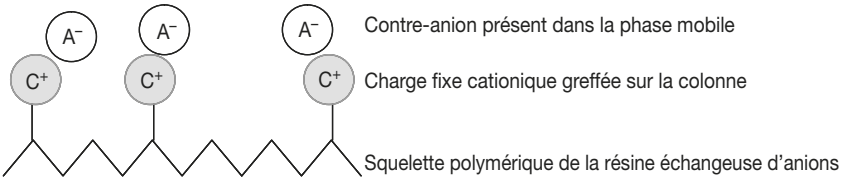
La chromatographie ionique utilise des colonnes de séparation dont la phase stationnaire est de type échangeur d'ions. Les supports sont le plus souvent constitués de copolymères de synthèse, de type styrène/divinylbenzène réticulé (formant un réseau croisé tridimensionnel résistant à l'écrasement) sur lesquels sont greffés les groupements échangeables. Des silices greffées sont également utilisées, le gel de silice servant de support aux chaînes porteuses des groupements échangeurs d'ions. Un polymère, porteur de fonctions organiques, déposé sur des microsphères de silice ou de polystyrène constitue une résine dite pelliculaire, également utilisable comme matériau de remplissage des colonnes.

Les sites échangeurs d'ions greffés sur ces supports sont :

– Chargés négativement dans le cas d'une colonne destinée à séparer les espèces cationiques (et appelée colonne cationique), ils contiennent le groupement sulfonate – SO_3^- pour les échangeurs dits cationiques forts ou carboxylique – COO^-, pour les échangeurs cationiques faibles.

– Chargés positivement dans le cas d'une colonne destinée à séparer les espèces anioniques (et appelée colonne anionique), ils contiennent selon la basicité souhaitée des groupements amine primaire ou quaternaire ($–NR_3^+$).

Des ions mobiles de charge opposée (contre-ions) assurent l'électroneutralité et ces ions mobiles retenus au voisinage des charges fixes sont susceptibles de s'échanger avec des ions de la solution (phase mobile ou échantillon). Ainsi, en présence de la phase mobile, tous les sites échangeables des colonnes sont appariés avec le contre-ion correspondant présent dans la phase mobile, comme le montre le schéma ci-dessous dans le cas d'une colonne anionique.



Ainsi, les ions hydrogénocarbonates (HCO_3^-) d'une phase mobile utilisée pour la séparation d'anions, serviront de contre-anions pour la colonne anionique comportant des groupements échangeurs cationiques de type ammonium quaternaire – NR_3^+. Puis, au cours de l'élution, les anions X^- présents dans l'échantillon, viendront prendre la place de ce contre-anion HCO_3^-), puis seront élués par échange d'ions par l'anion de la phase mobile (dit ion développeur) en étant remplacés par l'ion HCO_3^-. Entraînés par la phase mobile, ils pourront alors se fixer à nouveau sur la colonne, et leur progression dans cette colonne anionique sera fonction de leur affinité avec le groupement ionique – NR_3^+ de la colonne.

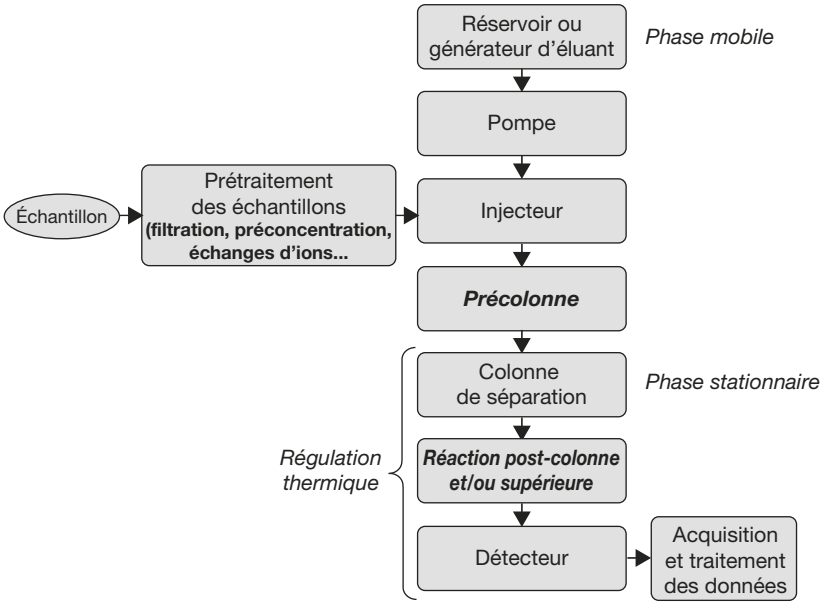
Les phases mobiles utilisées sont des solutions aqueuses salines contenant des ions développeurs anioniques pour la séparation des anions (soit carbonates, phosphates, acétates…) et cationiques pour la séparation des cations (ammonium, hydronium, pyridinium…).

La compétition vis-à-vis de sites ioniques de la phase stationnaire entre l'ion de l'échantillon et l'ion développeur de la phase mobile détermine l'efficacité de la séparation (résolution). Cette résolution peut être améliorée en modifiant la concentration en sels de la phase mobile (et donc sa force ionique) ou le pH de cet éluant. Des gradients de force ionique ou de pH sont ainsi mis en œuvre pour optimiser les séparations.

Le domaine de travail est limité par la capacité d'échange d'ions des phases stationnaires des colonnes utilisées pour la séparation. Suivant les concentrations et les volumes d'échantillons injectés pour l'analyse, les colonnes pourront être choisies avec une capacité d'échange plus ou moins importante. Une dilution de l'échantillon pourra s'avérer intéressante.

☐ Matériel utilisé

Le matériel mis en œuvre pour la CI comporte les mêmes unités que l'analyse CLHP (cf. § A-10.1.2), avec quelques spécificités comme l'illustre la chaîne de mesure présentée sur le schéma ci-dessous. Les différentes unités sont reliées entre elles par des tuyaux de faible diamètre (de l'ordre de 0,1 mm) en matériau résistant aux réactifs et aux pressions (généralement de nature polymérique ou en acier inoxydable).



Au cœur de ce dispositif se trouve la pompe CLHP, qui doit assurer la circulation de la phase mobile à travers la colonne. Selon la colonne utilisée et le débit imposé, cette pompe doit pouvoir assurer une pression qui peut aller jusqu'à plusieurs dizaines de bars. Suivant leur conception, ces pompes peuvent assurer la circulation d'une composition fixe en phase mobile (mode isocratique) ou au contraire une composition variable (pour réaliser un gradient d'élution). Pour éviter les fluctuations de débit dans les différents modules, les éluants (qui sont généralement solutions aqueuses salines) doivent être soigneusement dégazés, par filtration sur un matériel spécial ou par barbotage de gaz (He, N_2).

Un volume précis d'échantillon (50 à 1 000 μL en général) est introduit dans la chaîne de mesure grâce à un injecteur (manuel ou motorisé dans le cas des injecteurs automatiques) de type vanne haute pression à plusieurs voies.

La colonne se présente comme un tube d'une longueur variant entre 100 et 250 mm et d'un diamètre le plus souvent compris entre 2 et 4,5 mm. La phase stationnaire comporte des sites échangeurs d'anions pour séparer des anions et échangeurs de cations pour séparer des cations. Cette colonne est parfois précédée d'une précolonne (ou colonne de garde), remplie d'une phase stationnaire souvent identique à celle de la colonne, et de longueur plus faible, qui est destinée à retenir certaines impuretés pour protéger la colonne et augmenter sa durée de vie. Les particules qui composent la phase stationnaire présentent généralement un diamètre de quelques μm, ce qui permet à la CI d'être une chromatographie à relativement basse pression.

Les composés élués par la phase mobile sont ensuite détectés et leur teneur est quantifiée grâce au détecteur adapté.

Pour améliorer la sensibilité de la détection, il est possible de mettre en place une réaction post-colonne grâce à un composé qui réagit avec l'ion à doser en conduisant à un produit de réaction plus aisément détectable. Il est également souvent fait appel à un suppresseur d'ions (voir ci-dessous).

En général, l'ensemble des modules de la chaîne de chromatographie ionique est piloté par microprocesseur.

Un dispositif de régulation thermique adapté aux colonnes et/ou à la cellule du détecteur, complète souvent cet équipement. Les variations de température de la colonne modifient en effet la sélectivité en influant sur la diffusion des solutés et elles peuvent encore affecter la grandeur mesurée par le détecteur (par exemple la conductivité).

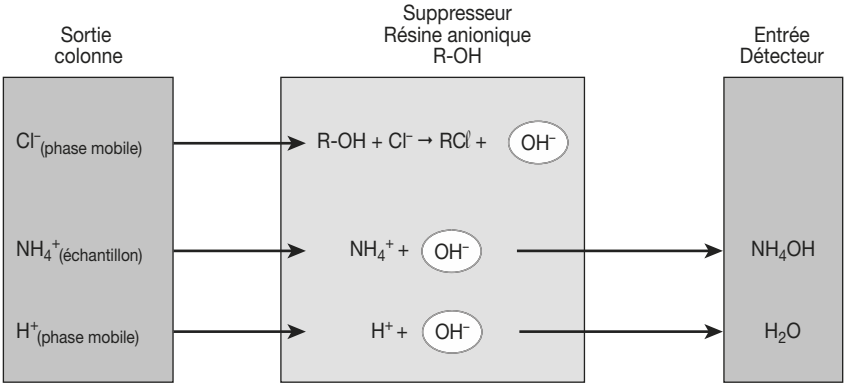
Suppression d'ions de la phase mobile

La chromatographie ionique utilise des éluants fortement ioniques (présentant donc une forte conductivité), qui peuvent perturber le signal lors de l'analyse d'ions en faible concentration. Pour palier cet inconvénient il est fait appel à un dispositif (réacteur post-colonne) appelé suppresseur, qui remplace les ions initiaux de la phase mobile par d'autres ions présentant moins d'interférences lors de la détection (possédant par exemple une plus faible conductivité dans le cas d'une détection conductimétrique).

Plusieurs dispositifs ont été élaborés à cet usage, dont le plus simple est de type échangeur d'ions, mais on utilise aussi des suppresseurs chimiques, des suppresseurs à fibre creuse ou plus récemment des suppresseurs électrolytiques.

Ainsi, les détecteurs conductimétriques sont généralement couplés à des réacteurs post-colonne de type suppresseur d'ions, qui ont pour objectif de réduire la conductivité de l'éluant et de transformer les ions séparés, en leurs bases correspondantes pour les cations et en leurs acides correspondants pour les anions.

Le principe de cette suppression par échangeur d'ions est illustré sur le schéma ci-dessous pour l'analyse des cations. Le réacteur post-colonne associé à cette analyse est un échangeur d'anions dont l'ion mobile est l'ion OH^-, cet échangeur anionique étant représenté schématiquement par son squelette polymérique (R) et son groupement échangeur OH par R-OH.



Considérons l'un des cations séparé (NH_4^+) qui arrive en sortie de colonne. Il est accompagné par le cation H^+ provenant de la phase mobile (souvent HCl), l'ion Cl^- de la phase mobile assurant l'électroneutralité du milieu. Si la phase mobile est concentrée, la détection de traces d'ions NH_4^+ dans ce milieu s'avère délicate par conductimétrie.

Dans le suppresseur constitué par l'échangeur anionique, les ions Cl^- de la phase mobile sont échangés par des ions OH^-. Ces ions OH^- réagissent ensuite sur les ions H^+ de la phase mobile pour donner H_2O et sur les ions NH_4^+. Il s'ensuit qu'en sortie de suppresseur, les ions H^+ et Cl^- ont disparu et que les seules espèces conductrices présentes sont représentées par

NH_4^+/OH^-. L'ion NH_4^+ sera donc plus facilement détecté, d'autant que l'ion associé OH^- est plus conducteur que l'ion Cl^- initial.

Détection

DÉTECTION CONDUCTIMÉTRIQUE

Le détecteur le plus classique en CI est le conductimètre. En effet, tous les ions conduisent le courant électrique et possèdent une conductance. La conductance électrique G d'un ion ou d'une solution correspond à l'inverse de sa résistance et s'exprime en Siemens (S).

Dans une cellule de mesure comportant deux électrodes dont la section présente une surface S en cm^2), séparées par une distance l (en cm), la conductance G (en Siemens) de la solution est proportionnelle à la surface et inversement proportionnelle à la distance l :

$$G = \frac{1}{R} = \gamma \frac{S}{l}$$

γ étant la conductance spécifique (ou conductivité) de la solution (en Siemens/cm)

Pour des solutions de faible concentration, on peut considérer que la conductivité est proportionnelle à la concentration des espèces présentes. Mais elle est fortement influencée par les variations de température, ce qui justifie l'utilisation de cellules de mesure thermostatées.

De plus, la mesure de la conductivité ne possède aucune sélectivité intrinsèque et ne donne qu'une indication globale de l'ensemble des conductivités des éléments présents dans la cellule de mesure. Ainsi, après séparation des ions sur la colonne, les éluants fortement ioniques perturbent la détection conductimétrique en provoquant des bruits de fond notables, ce qui nécessite la mise en œuvre d'un suppresseur d'ions.

AUTRES MODES DE DÉTECTION

Certaines espèces ioniques absorbent dans l'UV et autorisent une détection UV directe, le plus souvent dans la gamme de longueur d'onde allant de 190 à 220 nm, utile par exemple pour détecter les ions bromates, iodures, iodates, nitrites, nitrates, ou sulfites, mais aussi de nombreux cations métalliques.

D'autres composés sont détectables en spectrométrie visible, après formation d'un complexe coloré par réaction avec un agent complexant, réagissant avec une ou plusieurs espèces ioniques et absorbant à des longueurs d'onde spécifiques.

Plusieurs détecteurs utilisent des principes électrochimiques, comme l'ampérométrie, la potentiométrie, la coulométrie…

■ Dosage simultané d'anions ou de cations par chromatographie ionique

Éléments dosés et conditions analytiques

Les nombreuses chaînes de chromatographie ionique commercialisées à ce jour offrent un large éventail de possibilités et permettent le dosage

simultané de traces d'anions ou de cations, avec des possibilités diverses de choix de la colonne, de la phase mobile, du détecteur et du suppresseur d'ions.

À titre d'exemple, nous résumerons dans le tableau suivant quelques unes de ces possibilités (gammes de travail, phases mobiles habituelles, modes de détection, interférences), à travers 3 méthodes de dosage simultané d'anions (méthodes ①② et ③) et une méthode de dosage simultané de cations (méthode ④). Toute méthode de dosage individuel d'anions ou de cations sera développée dans le paragraphe de l'élément concerné. Des précisions complémentaires sur ces méthodes figurent dans le texte des normes françaises (voir § références normatives).

La détection conductimétrique (CD) s'applique dans la majorité des cas, mais l'usage de l'UV ou de l'ampérométrie (AD) permet parfois de réduire les interférences ou d'abaisser la limite de quantification.

Il est donc important de choisir le matériel en fonction des objectifs analytiques et de suivre les instructions du fabricant pour le choix des colonnes et pour la composition des éluants correspondants.

Pour l'analyse des anions ou des cations présentés dans le tableau ci-dessous, les colonnes sont respectivement des échangeurs d'anions ou de cations à faible capacité d'échange.

Dans la colonne interférences de ce tableau figurent les risques de sensibilité croisée avec les différents éléments interférant suivi, entre parenthèses, du rapport massique ion interférent/ion dosé, rapport au-delà duquel des interférences notables sont susceptibles de se produire.

Mode opératoire général

En suivant les instructions du constructeur de l'appareillage, on procédera aux différentes étapes suivantes :

– préparation et dégazage des éluants,

– réglage et stabilisation du chromatographe,

– vérification des conditions de séparation des éléments à doser simultanément et identification de chaque élément par son temps de rétention, grâce aux solutions étalons,

– établissement d'une courbe d'étalonnage de l'appareil dans la gamme de travail souhaitée, en utilisant des solutions étalon mixtes contenant l'ensemble des éléments à doser,

– prétraitement des échantillons,

– injection des échantillons après une éventuelle dilution si la concentration en ions est supérieure aux valeurs d'étalonnage,

– essais à blanc,

– calcul des concentrations dans chaque échantillon.

Les échantillons et les solutions étalon sont exclusivement stockés dans des flacons en polyéthylène et toutes les solutions sont préparées avec de l'eau ultra-pure.

Méthodes d'analyse d'anions ou de cations, conditions de travail et interférences

Dosage simultané ⊗ méthode	Anions analysables		Gamme de travail possible mg/L	Phases mobiles habituelles	Détecteur	Interférences connues Sensibilité croisée (rapport massique ion interférent/ion dosé)
Anions ① *NF EN ISO 10304-1*	Bromure	Br^-	0,05 à 20	Avec suppresseur d'ions Solutions salines d'acides faiblement dissociés (Na_2CO_3/$NaHCO_3$) Sans suppresseur Hydrogénophtalate de potassium ($C_8H_5O_4K$) – mélange borate/gluconate – benzoate de sodium	CD	Cl^- (500), NO_3^- (50), PO_4^{3-} (100), SO_4^{2-} (500)
	Chlorure	Cl^-	0,1 à 50			NO_2^- (50), NO_3^- (500), SO_4^{2-} (500)
	Fluorure	F^-	0,01 à 10			Cl^- (500)
	Nitrite	NO_2^-	0,05 à 20			Cl^- (250), NO_3^- (500), PO_4^{3-} (50), SO_4^{2-} (500)
	Nitrate	NO_3^-	0,1 à 50			Cl^- (500), SO_4^{2-} (500), Br^- (100)
	Orthophosphate	PO_4^{3-}	0,1 à 20			Cl^- (500), NO_3^- (500), Br^- (100), NO_2^- (100), SO_4^{2-} (500)
	Sulfate	SO_4^{2-}	0,1 à 100			Cl^- (500), NO_3^- (500)
Anions ② *NF EN ISO 10304-3*	Iodure	I^-	0,1 à 50	Avec suppresseur NaOH ou solutions salines d'acides faiblement dissociés (Na_2CO_3/$NaHCO_3$) Sans suppresseur Acide phtalique ou Borate/gluconate	CD UV (205 à 236 nm), AD (0,7 à 1,1 V)	SO_4^{2-} (éliminer avec colonne baryum)
	Thiocyanate	SCN^-				acides carboxyliques sensibilité croisée avec autres anions rarement observée, même en cas de différences de concentrations importantes
	Thiosulfate	$S_2O_3^{2-}$				
Anions ③ *NF EN ISO 10304-4*	Chlorate	ClO_3^-	0,03 à 10	Avec suppresseur carbonate/bicarbonate ou bicarbonate Sans suppresseur Hydrogénophtalate de K Acide benzoïque	CD CD UV (207 nm à 220 nm) AD (0,4 à 1 V)	Br^- (50), NO_3^- (500)
	Chlorite	ClO_2^-	0,05 à 1 0,1 à 1 0,01 à 1			F^- (100 en CD, 10 en UV), CO_3^{2-} (1000), NO_2^- (100), Cl^- (1 000)
	Chlorure	Cl^-	0,1 à 50		CD	F^- (500), NO_2 (50)$^-$, ClO_2^- (1 000)
Cations ④ *NF EN ISO 14911*	Ammonium	NH_4^+	0,1 à 10	Avec suppresseur Éluants à base d'acide chlorhydrique ou d'acide méthanesulfonique Sans suppresseur Éluant acide tartrique ou nitrique	CD	Sensibilités croisées fortement influencées par la sélectivité de la colonne utilisée
	Baryum	Ba^{2+}	1 à 100			
	Calcium	Ca^{2+}	0,5 à 50			
	Lithium	Li^+	0,01 à 1			
	Magnésium	Mg^{2+}	0,5 à 50			
	Manganèse	Mn^{2+}	0,5 à 50			
	Potassium	K^+	0,1 à 10			
	Sodium	Na^+	0,1 à 10			
	Strontium	Sr^{2+}	0,5 à 50			

☐ **Appareillage**

– Système de chromatographie ionique tel que décrit précédemment comprenant un réservoir d'éluant, une pompe HPLC, un dispositif d'injection de l'échantillon équipé d'une boucle d'échantillonnage de 20 à 50 μL, une précolonne et une colonne de séparation adaptées aux séparations ioniques envisagées, un détecteur éventuellement précédé d'un réacteur post-colonne (suppresseur d'ions dans le cas d'un détecteur conductimétrique), d'un système d'acquisition des données.

– appareil de filtration sur membrane (porosité 0,45 μm).

– cartouches pour le prétraitement des échantillons.

Préparation de quelques éluants usuels

À titre d'exemple, la composition de quelques éluants habituels est présentée ci-dessous. Ils sont généralement préparés chaque jour ou au maximum tous les 2 à 3 jours par dilution d'une solution mère, qui elle se conserve souvent plusieurs semaines. Le choix entre ces différents éluants dépend des éléments à doser, de la colonne de séparation utilisée et du détecteur. Pour chaque dosage, il y a lieu de se référer aux spécifications du fabricant de la colonne choisie pour une composition optimale de l'éluant.

– Éluant carbonate de sodium (2,4 10^{-3} mol/L)/hydrogénocarbonate de sodium (3 10^{-3} mol/L).

La solution mère est préparée comme suit :

Carbonate de sodium		25,4	g (0,24 mol)
Hydrogénocarbonate de sodium		25,2	g (0,30 mol)
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

Une dilution au 1/100e de cette solution mère donne un éluant satisfaisant pour le dosage simultané des ions fluorure, nitrite, nitrate, chlorure, bromure, orthophosphate et sulfate.

– Éluant carbonate de sodium (1,8 10^{-3} mol/L)/hydrogénocarbonate de sodium (1,7 10^{-3} mol/L).

La solution mère est préparée comme suit :

Carbonate de sodium		19,1	g (0,18 mol)
Hydrogénocarbonate de sodium		14,3	g (0,17 mol)
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

Une dilution au 1/100e de cette solution mère donne un éluant satisfaisant pour le dosage simultané des ions chlorate, chlorure et chlorite.

– Éluant carbonate de sodium (3,4 10^{-3} mol/L)/hydrogénocarbonate de sodium (4,3 10^{-3} mol/L)/hydroxy-4 benzonitrile (1,3 10^{-3} mol/L).

La solution mère est préparée comme suit :

Carbonate de sodium		36,0	g (0,34 mol)
Hydrogénocarbonate de sodium		36,1	g (0,43 mol)
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

L'éluant est préparé en diluant au 1/100e cette solution mère et en lui ajoutant 750 mg/L d'hydroxy-4 benzonitrile (soit 1,3 10^{-3} mol/L). Cet éluant est satisfaisant pour le dosage simultané des ions thiocyanate, iodure et thiosulfate.

– Éluant hydrogénocarbonate de sodium (10^{-3} mol/L).

La solution mère est préparée comme suit :

Hydrogénocarbonate de sodium		8,4	g (0,1 mol)
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

Une dilution au 1/100e de cette solution mère donne un éluant contenant 10^{-3} mol/L d'hydrogénocarbonate, satisfaisant pour le dosage simultané des ions chlorate, chlorure et chlorite.

– Éluant hydrogénophtalate de potassium à 10^{-3} mol/L (et à pH 8,5).

On prépare une solution mère d'hydrogénophtalate de potassium ($C_8H_5O_4K$) à 0,1 mol/L (20,5 g/L), qui se conserve environ 1 mois à 4 °C.

L'éluant à 10^{-3} mol/L est préparé par dilution au 1/100e de cette solution mère. Son pH est ajusté à 8,5. Cet éluant peut convenir pour le dosage simultané des ions fluorure, nitrite, nitrate, chlorure, bromure, orthophosphate et sulfate.

– Éluant acide phtalique (2,7 10^{-3} mol/L)/acétonitrile (1 %) à pH 4,0 à 4,5.

La solution mère est préparée en dissolvant l'acide phtalique dans de l'eau ultra-pure puis en ajoutant l'acétonitrile à la solution :

Acide phtalique ($C_8H_6O_4$)		4,485	g (0, maul)
Eau ultra-pure	environ	800	mL
Acétonitrile		100	mL
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

Ajuster le pH de cette solution mère à 4 à l'aide de tri(hydroxyméthyl) aminométhane.

L'éluant utilisable pour le dosage simultané des ions thiocyanate, iodure et thiosulfate est préparé par dilution au 1/10e de cette solution mère. Il contient 2,7 10^{-3} mol/L d'acide phtalique, 1 % d'acétonitrile et son pH doit être compris entre 4,0 et 4,5.

– Éluant borate/gluconate.

La solution concentrée est préparée comme suit, le glycérol étant ajouté après dissolution complète des différents composants :

Acide gluconique, sel de sodium ($C_6H_{11}NaO_7$)		16	g (0,073 mol)
Acide borique (H_3BO_3)		18	g (0,291 mol)
Tétraborate de sodium ($Na_2B_4O_7$)		25	g (0,124 mol)
Eau ultra-pure	environ	500	mL
Glycérol ($C_3H_8O_3$)		250	mL
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

L'éluant utilisé pour le dosage simultané des ions thiocyanate, iodure et thiosulfate contient 1,7 10^{-3} mol/l d'acide gluconique, 6,8 10^{-3} mol/l d'acide borique, 2,9 10^{-3} mol/l de tétraborate de sodium, environ 0,6 % de glycérol et 12 % d'acétonitrile. Son pH doit être compris entre 8,3 et 8,7. Il s'obtient comme suit :

Eau ultra-pure	environ	500	mL
Solution mère		23,5	mL
Acétonitrile		120	mL
Eau ultra-pure	q.s.p.	1 000	mL

– Éluant acide benzoïque (3 10^{-3} mol/L) et acétonitrile (2 %). La solution concentrée est préparée comme suit :

Acide benzoïque ($C_7H_6O_2$)	3,664 g (0,03 mol)
Eau ultra-pure	environ 950 mL
Tri(hydroxyméthyl) aminométhane	q.s.p. pH = environ 4,2

Dissoudre sous agitation et chauffage modéré. Refroidir. Transférer dans une fiole jaugée de 1 000 mL et continuer comme suit :

Acétonitrile	10 mL
Tri (hydroxyméthyl) aminométhane	q.s.p. pH = 4,6
Eau ultra-pure	q.s.p. 1 000 mL

Un éluant convenable pour le dosage des ions chlorate, chlorure et chlorite se prépare comme suit :

Solution mère	100 mL
Acétonitrile	20 mL
Eau ultra-pure	q.s.p. 1 000 mL

Il contient 3 10^{-3} mol/l d'acide benzoïque, environ 2 % d'acétonitrile et son pH est égal à 4,65.

– Éluant acide chlorhydrique (40 10^{-3} mol/L)/DAP (4 10^{-3} mol/L).

Cet éluant peut s'utiliser pour le dosage des cations lithium, sodium, ammonium, potassium, manganèse, calcium, magnésium, strontium et baryum. La solution est stable environ 7 jours et se prépare dans les conditions suivantes :

Acide chlorhydrique concentré (d = 1,18 ; 35,5 %)	3,5 mL
Chlorhydrate d'acide DL-2,3-diamino propionique (DAP) $C_3H_8N_2O_2$, HCl	0,562 g
Eau ultra-pure	q.s.p. 1 000 mL

– Éluant acide tartrique (4 10^{-3} mol/L)/PDA (10^{-3} mol/L). La solution concentrée est préparée comme suit :

Acide pyridine-2,6-dicarboxylique (PDA) $C_7H_5NO_4$	1,671 g (0,01 mol)
Eau ultra-pure	environ 500 mL

Dissoudre par chauffage entre 60 et 80 °C, puis refroidir et continuer comme suit :

Acide tartrique $C_4H_6O_6$	6,003 g (0,04 mol)
Eau ultra-pure	q.s.p. 1 000 mL

Une dilution au 1/10e de cette solution mère permet d'obtenir un éluant contenant 4 10^{-3} mol/L d'acide tartrique et 10^{-3} mol/L de PDA, éluant utilisable pour le dosage simultané des cations lithium, sodium, ammonium, potassium, manganèse, calcium, magnésium, strontium et baryum.

Préparation de solutions étalon : exemple de solutions classiquement préparées

Selon les applications, on pourra préparer des solutions étalons mono-élémentaires, ou des solutions mixtes dont les concentrations pourront être différentes pour chaque élément en fonction de l'abondance relative de ces

éléments dans les eaux ou encore de la sensibilité de leur détection et de leur limite de quantification. Le tableau ci-dessous donne des exemples de solutions étalons habituellement utilisées.

Pour chaque ion dosé, on prépare généralement une solution mère à 1 g/L, à partir des sels figurant sur le tableau ci-dessous (les sels étant préalablement séchés puis refroidis en dessicateur, sauf exception indiquée dans le tableau). Une solution mixte concentrée (solution mère) contenant l'ensemble des ions dosés est ensuite préparée à partir de ces solutions mères en suivant par exemple les indications ci-dessous. Par dilution de cette solution mixte mère, on obtiendra une gamme de solutions étalons mixtes (au nombre minimum de 5) de concentrations échelonnées dans la gamme de travail.

Ion à doser	Solution mère à 1 g/L		Solution mixte mère			Gamme d'étalonnage usuelle (mg/L) *(à adapter en fonction des concentrations à analyser)*
	Sel utilisé	Quantité (g/L)	Ions dosés simultanément	[Ion] mg/L	Dilution de chaque solution mère	
Fluorure	NaF	2,2100	Solution mixte pour dosage simultané des 7 anions	10	1/100	0,1 à 1,0 mg/L
Nitrite	$NaNO_2$	1,4998				
Orthophosphate	KH_2PO_4	1,4330				
Bromure	NaBr	1,2877				
Chlorure	NaCl	1,6484		100	1/10	1,0 à 10,0 mg/L
Nitrate	$NaNO_3$	1,3707				
Sulfate	Na_2SO_4	1,4790				
Iodure	NaI	1,1812	Solution mixte pour dosage simultané des 3 anions	100	1/10	1,0 à 10,0 mg/L
Thiocyanate	KSCN	1,6732				
Thiosulfate	$Na_2S_2O_3$, $5H_2O$*	2,2134				
Chlorite	$NaClO_2$**	1,7***	Solution mixte pour dosage simultané des 3 anions	10	1/100 Ajouter 1 mL/L de NaOH 0,1 M	0,1 à 1,0 mg/L
Chlorate	$NaClO_3$**	1,2753				
Chlorure	NaCl	1,6484				
Lithium	$LiNO_3$	9,9337	Solution mixte pour dosage simultané des 9 cations	5	1/200	0,05 à 0,5 mg/L
Ammonium	NH_4Cl	2,9655		10	1/100	0,1 à 1,0 mg/L
Sodium	$NaNO_3$	3,6979				
Calcium	$Ca(NO_3)_2$, $4H_2O$*	5,8920 §		20	1/50	0,2 à 2,0 mg/L
Magnésium	$Mg(NO_3)_2$, $6H_2O$*	10,5497 §				
Manganèse	$Mn(NO_3)_2$, $4H_2O$*	4,5690 §				
Potassium	KNO_3	2,5860				
Strontium	$Sr(NO_3)_2$	2,4153 §		50	1/20	0,5 à 5,0 mg/L
Baryum	$Ba(NO_3)_2$	1,9031 §		100	1/10	1,0 à 10,0 mg/L

** séchage du sel déconseillé.*
*** séchage uniquement au dessicateur.*
**** déterminer la concentration précise de cette solution par iodométrie.*
§ préparer la solution dans HNO_3 à 10^{-3} mol/L.

Prétraitement des échantillons

Les échantillons sont filtrés sur membrane de 0,45 μm dès leur réception au laboratoire. Cette filtration protège la colonne de chromatographie des matières en suspension et évite l'adsorption des éléments à doser sur ces particules en suspension.

Différentes cartouches de prétraitement d'échantillons (contenant des échangeurs de cations régénérés sous différentes formes) peuvent ensuite être mises en œuvre telles que :

– cartouches Ba pour piéger les ions sulfates,
– cartouche Ag pour piéger les ions chlorure et bromure,
– cartouche H pour piéger les ions carbonates et hydrogénocarbonates.

Lors de l'injection de l'échantillon, une précipitation peut se produire par réaction entre les ions de l'échantillon et ceux de la phase mobile. Pour limiter cet inconvénient il est fréquent d'ajouter une faible quantité de l'éluant concentré dans l'échantillon (dans une proportion habituelle de 1/100). Cette étape devra être suivie d'une filtration pour éliminer les précipités éventuellement formés. Pour compenser l'effet de dilution obtenu, on pourra traiter de la même manière toutes les solutions étalon.

Mode opératoire

Se reporter à la notice d'utilisation de l'appareil.

Expression des résultats

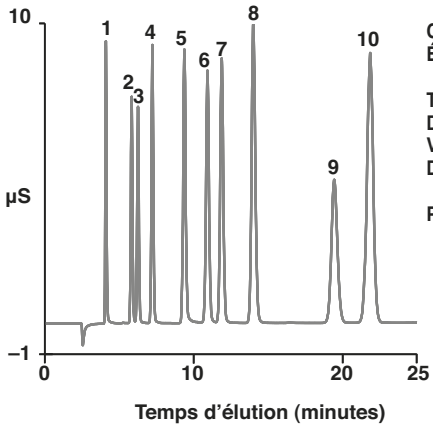
Repérer chaque anion sur le chromatogramme par son temps de rétention. Établir la courbe d'étalonnage en considérant que l'aire du pic (ou à défaut sa hauteur) est proportionnelle à la concentration de l'ion concerné.

Calculer la concentration de chaque anion dans l'échantillon en se référant à cette courbe d'étalonnage. Na pas oublier de prendre en compte les dilutions éventuelles.

Exemples d'application

Quelques exemples d'application de la chromatographie ionique à l'analyse simultanée d'anions ou de cations sont présentés ci-contre.

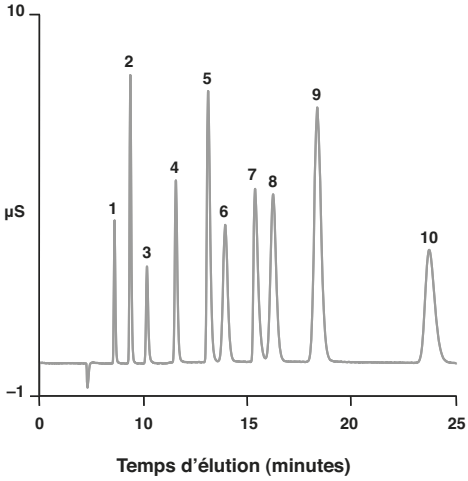
Analyse simultanée des anions bromate, bromure, chlorate, chlorite, chlorure, fluorure, nitrite, nitrate, orthophosphate et sulfate



Colonne	IonPac AG23, AS23, 4mm
Éluant	carbonate de sodium 4.5mM/ hydrogénocarbonate de sodium 0.8 mM
Température	30 °C
Débit	1.0 mL/min
Volume injecté	25 µL
Détection	Suppresseur ASRS® ULTRA II 4 mm AutoSuppression® mode recyclage
Pics	1. Fluorure 3 mg/L
	2. Chlorite 10 mg/L
	3. Bromate 20 mg/L
	4. Chlorure 6 mg/L
	5. Nitrite 10 mg/L
	6. Chlorate 25 mg/L
	7. Bromure 25 mg/L
	8. Nitrate 25 mg/L
	9. Phosphate 40 mg/L
	10. Sulfate 30 mg/L

Source : Société DIONEX.

Analyse simultanée des cations ammonium, baryum, calcium, césium, lithium, magnésium, potassium, rubidium, sodium et strontium



Colonne	IonPac® CS16
Eluant	Acide methanesulfonique 40 mM
Température	65 °C
Débit	1.0 mL/min
Volume injecté	25 µL
Détection	Suppresseur conductimérique : CSRS® ULTRA 4 mm, AutoSuppression® mode recyclage (suppressor outside oven, 300 mA)
Pics	1. Lithium 0,1 mg/L
	2. Sodium 0,4 mg/L
	3. Ammonium 0,5 mg/L
	4. Potassium 1 mg/L
	5. Rubidium 5 mg/L
	6. Magnésium 0,5 mg/L
	7. Césium 5 mg/L
	8. Calcium 1 mg/L
	9. Strontium 5 mg/L
	10. Baryum 5 mg/L

Source : Société DIONEX.

Méthodes de référence

NF EN ISO 10304-1, juin 1995. Dosage des ions fluorure, nitrite, orthophosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie en phase liquide, Partie 1 : Méthode applicable aux eaux faiblement contaminées.

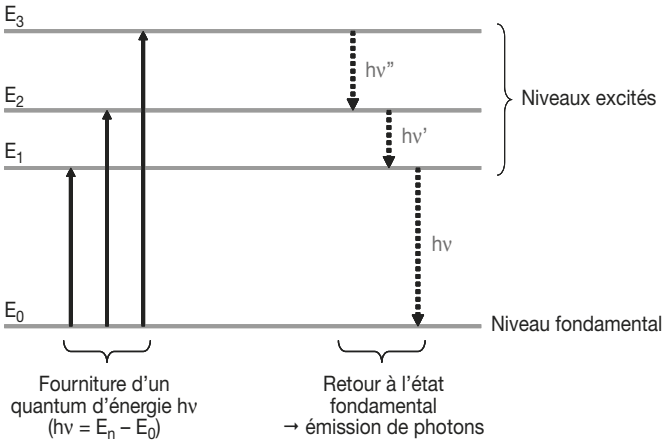
NF EN ISO 10304-3, octobre 1997. Dosage des anions par chromatographie des ions en phase liquide, Partie 3 : Dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate.

NF EN ISO 10304-4, juin 1999. Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide, Partie 3 : Dosage des ions chlorate, chlorure et chlorite dans les eaux faiblement contaminées.

NF EN ISO 14911. Octobre 1999. Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires.

7.1.4 Spectrométrie d'émission de flamme (ou photométrie de flamme)

Pour un atome à l'état libre, le passage de l'état fondamental à l'état excité est conditionné à la fourniture d'un quantum d'énergie correspondant à la différence d'énergie entre le niveau excité E_n et le niveau fondamental E_0, plusieurs transitions électroniques étant possibles suivant la quantité d'énergie fournie, comme le montre le diagramme d'énergie ci-dessous. Ce transfert correspond à une absorption d'énergie, qui peut être réémise spontanément sous forme de photons lors du retour à l'état fondamental initial.



L'utilisation de ce phénomène constitue la base de la spectrométrie d'émission, encore appelée photométrie de flamme.

☐ **Principe**

Lorsqu'une solution est pulvérisée dans une flamme, l'eau ou le solvant s'évapore ; les sels et leurs produits de décomposition sont dissociés à l'état d'atomes ou de radicaux. Ceux-ci sont excités par l'énergie thermique de la flamme ; leur retour à l'état fondamental s'accompagne de l'émission

d'une radiation de fréquence caractéristique de l'élément mis en solution et dont l'intensité est fonction de sa concentration.

L'élément est dosé en mesurant l'intensité des raies émises par la fraction des atomes passés à l'état excité. En effet, pour une population d'éléments atomisés dans la flamme, une fraction est excitée et provoque une émission lumineuse dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en éléments excités et donc à la concentration de cet élément dans l'échantillon. Cette relation suppose que la fraction d'éléments atomisés est rigoureusement identique tout au long de la procédure, ce qui ne peut être assuré que pour de faibles concentrations en éléments et pour des conditions instrumentales rigoureusement identiques.

Domaine d'application de l'émission de flamme

La loi de distribution de MAXWELL-BOLTZMAN permet de calculer la population sur chaque niveau énergétique en fonction du potentiel d'excitation et de la température et elle indique que, même pour des températures élevées, l'énorme majorité des atomes se trouve à l'état fondamental, surtout si l'écart énergétique est élevé. L'expérience montre que l'utilisation de l'émission de flamme est possible principalement pour le dosage des métaux alcalins dont les potentiels d'excitation sont faibles, et sous certaines conditions avec quelques alcalinoterreux.

Globalement, cette technique est applicable dans les conditions suivantes :

– Avec un photomètre de flamme utilisant une flamme butane/air (ou propane/air ou gaz naturel/air), dont la température maximale est de 2000 °C :

- essentiellement pour les ions alcalins (Li, Na, K, Cs),
- éventuellement pour les ions alcalinoterreux (Ca et Ba) mais avec des sensibilités généralement faibles.

– Avec un spectromètre d'absorption atomique (utilisé en mode émission de flamme, sans lampe à cathode creuse) :

- pour les alcalins et les alcalinoterreux, si l'on dispose d'une flamme acétylène/air ou acétylène/oxygène (dont la température peut atteindre 2300 °C),
- mais de préférence pour les alcalinoterreux (Ca, Sr, Ba) avec une flamme acétylène/protoxyde d'azote dont la température peut atteindre 2700 °C.

Mais il existe une grande diversité de modèles d'instruments avec des domaines d'applications variés ; il est donc difficile de préciser un choix unique d'appareillage. Il conviendra avant tout de se référer aux recommandations du fabricant.

☐ **Matériel**

L'émission de flamme ou photométrie de flamme peut se pratiquer avec 2 appareils : un photomètre de flamme ou un spectromètre d'absorption atomique, utilisé en émission (source à cathode creuse éteinte). D'un fonctionnement plus simple, les photomètres de flamme sont d'un prix d'achat relativement faible (5 à 10 fois inférieur à celui d'un spectromètre d'absorption atomique), mais ils sont utilisables presque uniquement pour les ions alcalins. Les photomètres de flamme possèdent généralement une flamme de

forme conique, qui permet de concentrer la zone d'émissions de photons et de récupérer le maximum de photons, alors que les spectromètres d'absorption atomique possèdent une flamme laminaire mince (environ 1 mm), mais longue (5 à 15 cm) pour augmenter la probabilité de rencontre d'un atome avec un photon.

Le photomètre de flamme comporte :

– un dispositif de pulvérisation/nébulisation balayé par le gaz comburant (air), qui transforme l'échantillon à analyser en un fin brouillard,

– un brûleur produisant une flamme butane/air,

– un système de sélection de longueur d'onde pour isoler la bande spectrale recouvrant la raie d'émission choisie, constitué le plus souvent d'un filtre coloré interchangeable,

– un récepteur photonique permettant la mesure du flux lumineux émis par l'élément lors de son retour à l'état fondamental.

Un spectromètre d'émission de flamme comporte :

– un générateur d'atomes constitué par :

- le dispositif de nébulisation. Un pulvérisateur spécial, alimenté par le gaz comburant dont le débit doit être parfaitement réglé et maintenu constant, transforme la solution à analyser en brouillard ;
- le brûleur. Il est alimenté par le gaz comburant contenant la solution nébulisée et par le gaz combustible. Le débit de ce dernier est soigneusement réglé par un détendeur et contrôlé par un manomètre. De par sa construction, le brûleur doit supporter une température assez élevée sans donner lieu à des dépôts ou des corrosions.

  Brûleur et pulvérisateur sont associés dans certains types de brûleurs à injection directe dans lesquels le brouillard est formé par la flamme même ;
- la flamme. Elle décompose partiellement les combinaisons moléculaires en atomes ou radicaux qui sont ensuite excités par l'énergie thermique. Le degré d'excitation obtenu qui conditionne en partie la sensibilité de la méthode dépend très étroitement de la température de la flamme ; celle-ci doit être d'autant plus élevée que le potentiel d'excitation de l'élément à doser est grand.

Différents mélanges gazeux permettent d'obtenir des températures de flamme différentes, mais l'accroissement du fond spectral de la flamme limite le gain de sensibilité attendu pour les hautes températures. Les gaz combustibles les plus utilisés sont l'hydrogène, le gaz de ville, le méthane, le propane, le butane et l'acétylène ; les comburants classiques sont l'air, l'oxygène, le protoxyde d'azote. Le mélange oxygène-acétylène permet d'obtenir une haute température de flamme avec un fond spectral élevé. Les flammes acétylène-air et oxygène-hydrogène permettent d'obtenir des températures légèrement plus basses mais avec un fond spectral acceptable.

Le mélange des gaz doit être précis et constant ; il est correct lorsque la flamme possède une extrémité bleue uniforme, surmontant une base conique plus claire :

– un système de sélection de longueur d'onde. Les écrans colorés, les filtres interférentiels ou le monochromateur à prisme ou à réseaux permettent de sélectionner la longueur d'onde de l'élément à doser ;

– un récepteur photonique. Le flux lumineux monochromatique est mesuré par un élément photosensible, le plus utilisé étant le tube photomultiplicateur.

□ Mode opératoire

Selon la teneur dans l'eau de l'élément dosé il sera nécessaire de procéder à une dilution. L'addition de « tampons de radiation » permet de tenir compte de la présence de substances étrangères susceptibles de provoquer des interférences. D'une façon générale il y a lieu de bien observer le mode opératoire propre à chaque dosage et de veiller à la constance des principaux paramètres : température de la flamme, débit de pulvérisation, choix de la longueur d'onde, bon fonctionnement du brûleur.

Méthodes de mesure

Méthode de lecture directe

Pulvériser la solution à analyser et se reporter à la courbe d'étalonnage. Cette méthode ne tient pas compte des effets perturbants et suppose que les débits de pulvérisation et la température de la flamme sont constants.

La courbe d'étalonnage doit être une droite ou voisine d'une droite. Dans le cas contraire, vérifier les réglages ou utiliser des solutions moins concentrées.

Méthode de l'étalon interne

Ajouter à chaque échantillon une quantité connue et constante d'un élément autre que celui à doser. Mesurer le rapport des intensités de la raie analysée et de la raie de l'étalon. Se reporter à la courbe d'étalonnage établie dans les mêmes conditions. Cette méthode permet d'éliminer les erreurs dues à des interférents, aux modifications de viscosité de la solution et aux variations de température de la flamme. Mais elle nécessite l'emploi de solutions étalons très pures. De plus, l'élément ajouté ne doit pas être un des éléments à doser dans l'échantillon d'eau analysée.

Méthode des ajouts dosés

Mesurer l'intensité d'émission de l'échantillon. Refaire la mesure plusieurs fois en ajoutant à chaque fois une quantité connue de l'élément à doser. Tracer la courbe donnant l'intensité d'émission en fonction des concentrations des solutions étalons ajoutées. Cette courbe coupe l'axe des abscisses en un point x tel que Ox représente la concentration cherchée.

Méthode par encadrement

Déterminer approximativement la concentration de l'élément à doser à partir de la courbe d'étalonnage. Préparer deux solutions dont les concentrations en éléments à doser encadrent la concentration de la solution d'étalonnage. Effectuer les mesures sur ces deux solutions et celle à doser.

La concentration C est exprimée en milligrammes par litre :

$$C = \left[\frac{(B - A)\,(s - a)}{b - a} + A \right] \times f$$

B = Concentration en milligrammes par litre de la solution d'encadrement la plus concentrée.

A = Concentration en milligrammes par litre de la solution d'encadrement la moins concentrée.

b, a et s = Résultats de mesure pour les solutions d'encadrement et pour la solution de dosage.

f = Facteur de dilution éventuel de l'échantillon.

Interactions

Les particules de soluté produites par évaporation de la solution dans la flamme sont volatilisées et partiellement dissociées en atomes. Volatilisation et dissociation dépendent non seulement de la nature et de la température de la flamme mais aussi de la nature des cations et anions de la solution. On observera de ce fait des interactions de types différents.

Interactions d'ordre chimique

– La nature des particules salines peut être un facteur d'interaction ; le chlorure de sodium par exemple, se dissocie plus aisément que le sulfate de sodium.

– Il peut y avoir, dans la flamme même, des réactions chimiques entre les constituants de la solution : les atomes de calcium peuvent se combiner avec la silice, l'aluminium et les phosphates pour donner des composés difficilement dissociables.

On peut remédier à ces interactions par :

– le choix d'une même matrice anionique pour les étalons et les solutions ;

– l'ajout d'un élément formant avec la silice, l'aluminium ou les phosphates, un composé préférentiel non dissociable ;

– la dilution des solutions.

INTERACTIONS D'ORDRE PHYSIQUE

Certains éléments, à concentration suffisamment élevée, émettent des spectres de bandes qui se superposent au rayonnement de l'élément à doser (magnésium, lanthane). Pour compenser cet effet, on peut :

– ajouter ces corps qui interagissent, ce qui constitue une méthode délicate ;

– mesurer la valeur réelle du fond et la soustraire de l'émission totale.

INTERACTION PAR « EFFET D'IONISATION »

Elle se produit surtout aux faibles concentrations et entraîne un affaiblissement de l'intensité ; c'est le cas notamment du potassium. On diminue cet effet en ajoutant un autre atome ionisable, ce qui entraîne une diminution de l'ionisation de l'élément le plus difficile à exciter. Ainsi, le césium diminue l'ionisation du potassium.

■ Dosage des alcalins (Na, K, Li) et des alcalinoterreux (Ca, Ba, Sr) par émission de flamme (photométrie de flamme)

L'émission de flamme est une méthode rapide et sensible pour le dosage des ions alcalins (Li, Na et K) dans les eaux. Cette méthode peut également être appliquée au dosage du césium (Cs), mais sa teneur dans les eaux est souvent trop faible (<0,1 μg/L) pour être détectée par cette méthode. On lui préférera dans ce cas la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif. C'est également le cas pour le calcium et le magnésium, qui peuvent être dosés par photométrie de flamme dans les eaux naturelles, mais pour lesquels la spectrométrie d'absorption atomique est souvent préférée, surtout si l'on ne dispose que d'un photomètre de flamme basse température, qui ne permet pas ces dosages. Un choix intermédiaire consiste à utiliser un spectromètre d'absorption atomique en mode émission (sans lampe source).

Principe, méthodes de mesure et interactions

Voir ci-dessus.

□ Matériel

On peut utiliser un photomètre de flamme ou un spectromètre d'absorption atomique (utilisé en mode émission, voir ci-dessus.

La bande passante du monochromateur doit être assez étroite pour éviter les interférences dues aux autres ions alcalins et alcalinoterreux.

Conditions analytiques

Les conditions analytiques habituelles sont résumées sur le tableau ci-dessous. Selon la sensibilité des appareillages, les limites de détection peuvent varier sensiblement, de même que la gamme de mesure. Il est

donc conseillé de suivre les indications du constructeur de matériel et d'adapter le protocole analytique (gamme étalon en particulier) en fonction des performances du matériel.

Ion à doser	Raie de résonance (nm)	Solutions mères à 100 mg/L			Configuration minimale requise	Limite de détection usuelle (mg/L)
		Sel utilisé/ Prétraitement		Quantité g/L		
Na	589,0	NaCl	Séchage à 140 °C	0,2542	Photomètre suffisant (flamme butane/air ou propane/air ou gaz naturel/air)	0,5 (photomètre) 0,01 (spectromètre)
K	766,5	KCl	Séchage à 110 °C	0,1907	"	
Li	670,8	LiCl	Séchage à 110 °C	0,6111	Photomètre (filtres parfois en option) – Spectromètre conseillé	0,01 (photomètre) 0,005 (spectromètre)
Sr	460,7	$Sr(NO_3)_2$	Séchage à 140 °C	0,2415 dissolution dans HNO_3 1 % (v/v)	Spectromètre indispensable (flamme acétylène/ air ou acétylène/ protoxyde d'azote	0,02
Ca	422,7	$CaCO_3$	Séchage à 180 °C	0,2495 dissolution avec quelques mL d'HCl 0,1 M et chauffage	Photomètre (filtres parfois en option) – Spectromètre conseillé	2,0 (photomètre) 0,5 (spectromètre)
Ba	553,6	$BaCl_2,2H_2O$	aucun	0,1779 dissolution avec 5 mL/L d'HNO_3 concentré	"	"

☐ **Réactifs**

Toutes les solutions et les échantillons seront stockés dans du flaconnage plastique, pour éviter les erreurs par excès associées aux éléments en provenance du verre.

– Eau déionisée ou de qualité équivalente : à utiliser pour préparer tous les réactifs et toutes les solutions étalon et pour diluer les échantillons, si nécessaire.

– Préparer les solutions mères à 100 mg/L selon les indications du tableau ci-dessus.

– Préparer des solutions intermédiaires en fonction des gammes d'étalonnage, par exemple à 10 mg/L pour Na et K et à 1 mg/L pour Li.

– Utiliser ces solutions intermédiaires pour préparer les solutions d'étalonnage. On utilisera une gamme d'au minimum 5 solutions étalon, réparties dans la gamme de mesure.

Mode opératoire

En raison des différences significatives entre les appareils commercialisés, il est conseillé de suivre les instructions du constructeur pour le détail des opérations et en particulier le démarrage (débits de gaz et conditions de flamme), la stabilisation de l'appareillage, les conditions de mesure, de rinçage (système aspiration/nébulisation) et d'arrêt. On veillera en outre à

ne pas passer d'échantillons contenant des composés particulaires. Une filtration préalable pourra être réalisée (porosité 0,45 μm).

L'expérimentation s'effectue comme suit :

– sélectionner la longueur d'onde appropriée à l'élément,

– ajuster la largeur de fente et la gamme de sensibilité,

– régler les pressions et les débits de gaz (comburant/combustible),

– prendre en compte les procédures de correction des interférences préconisées par le fabricant,

– mesurer les intensités d'émission en aspirant les différents étalons et les échantillons,

– procéder à la mesure par l'une des méthodes décrites dans le paragraphe précédent (méthode de lecture directe, avec l'étalon interne, par ajouts dosés ou par encadrement),

– calculer la concentration en élément dans les échantillons.

Toutes les conditions analytiques doivent être soigneusement contrôlées et reproductibles.

Réduction des interférences

Des interférences positives ou négatives peuvent être provoquées par la présence d'autres éléments. Pour limiter ces interférences (dites effet de matrice), on pourra ajouter aux solutions étalons et aux échantillons les modificateurs de matrice suivants :

– pour le dosage du sodium : solution saturée en chlorure de potassium, de magnésium ou de calcium,

– pour le dosage du potassium : solution saturée en chlorure de sodium, de magnésium ou de calcium,

– pour de nombreux éléments : solution saturée de chlorure de césium.

De fortes concentrations en ions chlorures, sulfates et carbonates perturbent la mesure.

La technique des ajouts dosés permet généralement de s'affranchir de ces effets de matrice.

Méthode de référence

NF T 90 019. Dosage du sodium et du potassium – Méthode par spectrométrie d'émission de flamme. Août 1984.

7.1.5 Spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

La spectrométrie d'absorption atomique est une technique qui s'est largement développée ces dernières années mais dont le phénomène de base était connu depuis très longtemps. Les séduisantes possibilités de la méthode et en particulier sa rapidité, l'ont fait adapter au dosage d'un certain nombre d'éléments rencontrés dans les eaux.

■ Principe

Pour un atome à l'état libre, le passage de l'état fondamental à l'état excité est conditionné à la fourniture d'un quantum d'énergie correspondant à

la différence d'énergie entre le niveau excité E_n et le niveau fondamental E_0.

En spectrométrie d'absorption atomique (SAA) on utilise un générateur de photons dont la fréquence correspond à l'élément à doser. Une population d'atomes, générée par un atomiseur à partir de l'échantillon, est éclairée par ce rayonnement lumineux de longueur d'onde donnée. Les atomes absorbent cette énergie incidente pour passer du niveau fondamental au niveau énergétique excité et le nombre de photons absorbés dans ce rayonnement incident peut être relié à la concentration par la relation :

$$A = k\,C$$

A = absorbance,

C = concentration de l'élément considéré dans la solution à analyser,

k = coefficient spécifique à chaque élément.

Cette relation permet la quantification de l'élément en procédant préalablement à un étalonnage avec des solutions de concentrations connues.

L'absorbance est proportionnelle au nombre d'atomes présents à l'état fondamental sur le trajet optique. Pour doser l'élément par absorption atomique, il faut donc le faire passer sous forme d'atomes libres. C'est le rôle du générateur d'atomes (ou atomiseur) qui permet d'obtenir un gaz atomique à partir d'un échantillon nébulisé en un aérosol très fin (brouillard de particules). Plusieurs systèmes d'atomisation sont utilisés en absorption atomique et leurs performances respectives permettent à cette technique d'ouvrir son champ d'applications à de très nombreux éléments.

L'atomisation la plus connue repose sur l'utilisation d'une flamme : c'est la spectrométrie d'absorption atomique avec flamme (SAAF). Un brûleur alimenté par un mélange combustible/comburant produit une flamme dans laquelle les molécules vont se dissocier en atomes.

L'utilisation d'un four en graphite à la place d'une flamme correspond à la technique de spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique (SAAE), encore appelée méthode sans flamme. Dans ce four un cycle de chauffage comportant une montée graduelle en température permet à 3 étapes de se dérouler successivement : le séchage de l'échantillon, sa décomposition par pyrolyse puis son atomisation. La température peut dépasser 3 000 °C avec une montée en température extrêmement rapide (1 000 °C par seconde), ce qui permet une atomisation en quelques secondes. Ce mode d'atomisation produit une plus forte densité d'atomes que la flamme, ce qui améliore la sensibilité du dosage de façon très significative.

Pour certains éléments, dont la volatilité est grande ou qui sont de ce fait très difficilement réduits à l'état atomique, on doit faire appel à un dispositif d'atomisation utilisant un générateur d'hydrures. C'est le cas pour le sélénium (Se) et l'arsenic (As), ou encore pour Hg ou Sb. Un agent réducteur constitué par du borohydrure de sodium ($NaBH_4$) ou du chlorure stanneux ($SnCl_2$) est mis à réagir en milieu acide avec l'échantillon. Il se forme avec l'élément un hydrure volatil, qui, entraîné par le gaz de balayage vers la flamme du brûleur est facilement thermolysé et conduit à la libération d'atomes.

Le cas du mercure est particulier, puisqu'il n'est pas transformé en hydrures, mais forme directement du mercure métallique à l'état atomique qui n'a pas besoin d'être porté dans une flamme. On fait donc appel à une technique appelée absorption atomique à vapeurs froides.

□ **Matériel**

L'appareillage utilisé comprend généralement :

– *un générateur de photons*, destiné à fournir un flux de photons d'intensité constante dans le temps et de fréquence bien définie correspondant à l'élément à doser. Le plus répandu est la lampe à cathode creuse constituée du métal (ou des métaux) à doser qui est volatilisé et excité par décharge cathodique dans une atmosphère gazeuse (néon ou argon) à très basse pression. Pour les éléments volatils, ces lampes à cathodes creuses présentent des performances réduites, ce qui conduit souvent à leur préférer des lampes à décharge sans électrode. C'est le cas en particulier pour As, Bi, Cd, Pb, Sb, Se et Zn.

– *un générateur d'atomes*, constitué :

- Soit d'un système de nébulisation comparable à celui employé en photométrie de flamme ; suivi d'une chambre de prémélange et de décantation, il alimente un brûleur généralement de type laminaire, long cylindre ou parallélépipède muni d'une fente longitudinale pouvant atteindre 15 cm ou de plusieurs séries de fentes transversales. L'alimentation en gaz combustible et comburant doit faire l'objet d'une régulation de débit très poussée par des ensembles de détendeurs, débitmètres et manomètres de contrôle. La flamme est essentiellement caractérisée par sa température et sa vitesse de combustion. Une flamme froide de type air-propane est utilisée pour des éléments ayant tendance à s'ioniser (alcalins) à une faible vitesse de combustion : le temps de séjour des atomes dans la flamme est alors long. Une flamme chaude de type hydrogène-oxygène ou acétylène-oxygène est utilisée avec des brûleurs de type chalumeau à injection directe dans le cas du dosage des éléments réfractaires. La vitesse de combustion étant élevée, il est nécessaire d'accroître le temps de séjour des photons dans la flamme en utilisant, par exemple, des trajets multiples à l'aide de renvois optiques. La flamme acétylène-protoxyde d'azote, de plus en plus utilisée, permet d'atteindre des températures relativement élevées avec une faible vitesse de combustion ;
- Soit d'un dispositif d'atomisation sans flamme ; il s'agit alors d'un tube de graphite (atomisation électrothermique), porté à haute température (1 500 à 2 600 °C) par le passage d'un courant. Le faisceau du générateur de photons est centré sur l'axe du tube, les caractéristiques particulières des appareillages variant suivant les constructeurs ;

– *un monochromateur simple*, destiné à la sélection de la longueur d'onde. L'utilisation du monochromateur à double faisceau, dont l'un atteint directement le récepteur sans traverser la flamme, permet d'éliminer les fluctuations de la source ;

– *un récepteur* constitué par un photomultiplicateur, associé à un amplificateur linéaire ou logarithmique, permet la mesure du signal émis (intensité lumineuse transmise). Dans les appareils de précision, on utilise de plus en plus un faisceau lumineux modulé mécaniquement ou électriquement et un amplificateur accordé sur cette modulation ; de ce fait les radiations non modulées émises par les atomes excités dans la flamme ne perturbent pas la mesure.

■ Prétraitement des échantillons

Prélevés dans des flacons en polyéthylène, les échantillons destinés au dosage d'éléments à l'état de trace sont stabilisés à pH < 2 par ajout d'acide nitrique concentré (5 mL d'HNO_3 concentré par litre d'échantillon). Pour l'analyse des formes dissoutes, on précédera à une filtration (porosité 0,45 μm) immédiatement après le prélèvement en utilisant une membrane

filtrante lavée avec de l'acide nitrique à 1 mol/L et soigneusement rincée. Les échantillons sont ensuite stabilisés comme précédemment par ajout d'acide, puis conservés au froid (entre 1 à 5 °C).

Pour le dosage des éléments à l'état de traces la concentration, si elle est indispensable, peut s'effectuer par un certain nombre de méthodes.

– Extraction par solvant. Ce procédé est très intéressant pour la spectrométrie d'absorption atomique, principalement en raison de l'amplification de l'absorption résultant de l'emploi de solvants organiques.

Ainsi, la méthylisobutylcétone augmente l'absorption du zinc, du cuivre et du plomb d'un facteur 4,5 au lieu de 3,5 pour l'acétone. Pratiquement, certains éléments sont traités par une solution à 2 % de pyrrolydine dithiocarbamate d'ammonium (1 partie pour 10) et le complexe formé est extrait à la méthyl-isobutylcétone ou la méthyl-*n*-amylcétone (1 partie pour 10). Cependant, cette technique allonge le mode opératoire et nécessite l'utilisation d'un *p*H d'extraction particulier pour chaque méthode. Enfin l'inconvénient de cette méthode est qu'elle conduit à un encrassement du brûleur.

– Résines échangeuses d'ions. La concentration se fait par passage sur résine de l'échantillon tamponné, suivi d'une élution à l'acide nitrique. Cependant, l'opération est assez longue et il existe beaucoup de difficultés pour la concentration simultanée de tous les éléments traces.

– Concentration par évaporation. L'échantillon est évaporé à sec ; la silice est séparée par l'acide fluorhydrique et le résidu est repris à l'eau déionisée. Dans ces conditions, la matrice peut avoir un effet important sur l'absorption (lithium, chrome, cobalt). Il est alors nécessaire de procéder à l'étalonnage dans des conditions voisines de la matrice en ajoutant, suivant le résidu, de 0,1 à 1 % de chlorure de sodium.

Dans le cas de l'atomisation sans flamme (four graphite), il n'est pas nécessaire, en général, d'effectuer un traitement particulier de l'échantillon. Le prélèvement (5 à 50 µL) est directement introduit dans le dispositif d'atomisation. Le solvant est d'abord évaporé à 100-105 °C, puis la matrice organique ou minérale (carbonates, chlorures, nitrates) est éliminée à 1 000-1 200 °C. L'atomisation proprement dite est réalisée entre 1 500 et 2 600 °C, selon l'élément à doser.

■ Préparation des solutions d'étalonnage

Une solution étalon mère contenant 1,000 g de métal par litre est préparée pour chacun des éléments à doser.

Selon les cas, cette solution est préparée soit en pesant directement le métal, soit à partir d'un des sels du métal concerné. Sauf indication contraire, les sels sont préalablement séchés à 105 °C pendant 1 heure. Lors de l'utilisation de certains métaux, il conviendra de les nettoyer auparavant avec de l'acide nitrique à 10 % (v/v) pour Cd et Zn par exemple, ou avec de l'acide chlorhydrique à 50 % (v/v) pour Cu et Fe. Le métal ou le sel sont dissous dans de l'acide (le plus souvent de l'acide nitrique concentré (d = 1,40) en chauffant modérément jusqu'à complète dissolution. Après refroidissement, la solution est transférée dans une fiole jaugée et le volume est ajusté avec de l'eau ultra-pure.

Ces solutions mères, qui sont également disponibles dans le commerce, sont stables plusieurs mois. Elles sont utilisées pour la préparation de solutions étalon intermédiaires :

– d'une concentration en métal égale à 10 mg/L et 1 mg/L, dont la stabilité est également de quelques mois,

– ou d'une concentration de 100 μg/L, qui demeure stable pendant quelques jours.

Ces solutions intermédiaires serviront à la préparation des solutions d'étalonnage dans une gamme de mesure définie. Pour préparer cette gamme, on ne manquera pas d'ajouter dans chaque solution étalon une quantité d'acide nitrique identique à celle ajoutée dans les échantillons (généralement 5 mL d'HNO_3 concentré par litre).

Les solutions étalon employées dans les laboratoires sont très souvent des solutions multiéléments, préparées à partir des solutions intermédiaires ci-dessus, ou encore les étalons multiéléments prêts à l'emploi disponibles dans le commerce.

Méthode de mesure

Méthode directe

C'est la méthode la plus couramment utilisée. Aspirer la solution à analyser. Lire l'absorption correspondante, et se reporter à la courbe d'étalonnage établie dans des conditions rigoureusement identiques.

Méthode des ajouts dosés

Mesurer l'absorbance de la solution à analyser. Refaire la mesure plusieurs fois, en ajoutant à chaque fois une quantité connue d'élément à doser. Tracer la droite donnant la densité optique en fonction de la concentration des ajouts. Cette droite coupe l'axe des abscisses en un point x tel que Ox représente la concentration cherchée. Cette méthode, plus exacte, est par contre plus longue lorsqu'il s'agit de faire des mesures en série. De plus, elle suppose que l'absorption mesurée est entièrement due à l'élément dosé, ce qui n'est pas toujours le cas.

Mais il est indispensable de vérifier la linéarité de la réponse dans la gamme de concentration étudiée, toute extrapolation à partir d'une courbe d'étalonnage non linéaire étant forcément discutable.

Précautions particulières

La formule de Winefordner exprime la concentration de l'élément dans la flamme en fonction d'un certain nombre de facteurs

$$N = 3 \,.\, 10^{21} \; \frac{n_{298}}{n_T} \; \frac{F\varepsilon}{QT} \; \beta C$$

N = Concentration de l'élément dans la flamme (at/mL).
C = Concentration de l'élément dans la solution (mol/L).
n_{298}, n_T = Nombre de mols de gaz produites à 298 °K et à T °K.
Q = Débit des gaz dans la flamme (mL/s).
T = Température de la flamme (°K).
F = Débit d'aspiration de la solution (mL/min).

ε = Efficacité de la pulvérisation, définie comme le rapport entre le volume de liquide vaporisé en gouttes de diamètre inférieur à 1 ou 10 µm et le volume total de liquide aspiré.

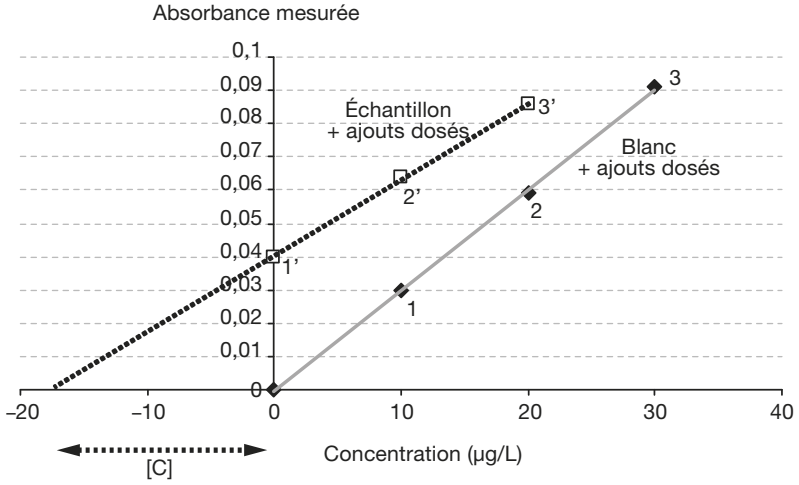
β = Efficacité d'atomisation, terme correctif tenant compte de l'appareillage et de la solution.

Dans cette relation apparaissent des facteurs non modifiables (F) et des facteurs modifiables : choix de la flamme, débit et composition du mélange gazeux (Q, n_{298} , n_T), longueur d'onde, ouverture de la fente et hauteur du brûleur.

Un grand soin doit donc être apporté aux conditions de réglage de l'appareil sous peine d'entraîner des interactions qui s'ajouteront à celles dues à la composition de la solution analysée.

Interactions

Une interaction est constituée par tout phénomène dont le résultat est de fausser le dosage. Lors de son apparition la méthode avait été présentée comme n'étant pas sujette aux interactions ; en fait, l'expérience a montré qu'il en existait un certain nombre. On peut faire apparaître une interaction en comparant les résultats donnés par la méthode directe et par la méthode des ajouts dosés. Si la courbe des ajouts dosés n'est pas parallèle à la courbe d'étalonnage, il y a interaction comme le montre la figure ci-dessous, sur laquelle la différence de pente entre les ajouts dosés dans l'échantillon et la droite d'étalonnage (blanc + ajouts dosés) met en évidence la présence d'interférences.



0 = Blanc

1 = Blanc + 10 µg/L

2 = Blanc + 20 µg/L

3 = Blanc + 30 µg/L

1' = Échantillon

2' = Échantillon + 10 µg/L

3' = Échantillon + 20 µg/L

[C] = Concentration en élément dans l'échantillon, déduite de la droite des ajouts dosés

Il existe plusieurs types de perturbations dues à des interactions ou interférences.

Interactions dues à la flamme

La flamme émet naturellement des radiations d'intensité variable, pouvant entraîner un rapport signal/bruit trop faible. Pour combattre ces interactions, on peut changer de flamme, ou changer de longueur d'onde, au détriment de la sensibilité.

La flamme peut également être le siège d'une émission parasite due à une solution trop visqueuse ou trop chargée en corps dissous, ou encore à une mauvaise nébulisation. De ce fait, les particules qui parviennent dans la flamme sont trop volumineuses et réfléchissent les photons incidents dans toutes les directions. Il s'ensuit une augmentation de l'absorption observée, qui n'est pas spécifique de l'élément dosé, et qui porte le nom d'effet *Scattering.* Pour diminuer ce type d'interaction, on peut évidemment utiliser des solutions moins visqueuses ou moins concentrées. On peut également mesurer l'absorption apparente de la solution à la longueur d'onde caractéristique de l'élément dosé, puis mesurer l'absorption non spécifique de la même solution à une fréquence voisine de la fréquence précédente. La différence donne l'absorption réellement due à l'élément.

Interactions d'ionisation

Lorsqu'un élément est ionisé, il quitte l'état fondamental et de ce fait ne peut plus absorber les photons issus de la lampe et l'absorption diminue. Ce phénomène est fréquent dans le dosage des alcalinoterreux et des alcalins, ainsi que pour certains éléments dosés en flamme chaude (protoxyde d'azote/acétylène). Il est possible de réduire ce type d'interaction en ajoutant à la solution à doser, ainsi qu'aux solutions étalons, 1,5 à 2 g/L d'un élément plus ionisable que l'élément à doser.

Interactions dues à la matrice

Ces interactions interviennent pour des concentrations en corps dissous supérieures à 2 % et lorsque la viscosité est différente de celle des étalons. Elles entraînent un effet *Scattering*, une baisse du nombre d'atomes neutres produits par suite d'une diminution du débit d'aspiration, et un encrassement rapide des brûleurs avec les risques d'explosion associés. Le moyen le plus simple d'éliminer ces interactions est de diluer les solutions ou d'utiliser des solvants organiques.

L'effet de matrice est en général faible ou nul dans le cas de l'atomisation sans flamme.

Interactions chimiques

Ce sont les plus importantes et les plus fréquentes ; elles sont dues au milieu extrêmement réactionnel que constitue la flamme. Dans un tel milieu les radicaux libres sont nombreux et les possibilités de recombinaisons importantes. Ce phénomène tend à contrarier la production d'atomes libres. Il peut avoir pour origine :

– une dissociation incomplète des combinaisons chimiques. C'est le cas lorsque la solution est trop visqueuse ou trop chargée, ou lorsqu'il se forme des oxydes. On réduira ce type d'interaction en procédant à des dilutions, en augmentant la température et en utilisant une flamme oxydante (cas du fer, du nickel, du cuivre) ou une flamme réductrice (molybdène, chrome, calcium, magnésium) ou, enfin, en employant une flamme très chaude et très réductrice (aluminium, silicium, vanadium, uranium) ;

– la formation de composés réfractaires dans lesquels le corps à doser est englobé et échappe à l'analyse. C'est le cas :
- du calcium en présence de sulfates, phosphates et silicates ;
- du magnésium en présence d'aluminium.

L'emploi d'une flamme protoxyde d'azote/acétylène diminue ou supprime ces interactions. On peut aussi ajouter un élément formant avec le corps responsable de l'interaction un composé plus réfractaire qu'avec l'élément à doser (sels de strontium ou de lanthane à la dose de 1 à 10 g/L), ou encore utiliser des complexants (EDTA). Enfin la séparation, par précipitation, coprécitation ou extraction sélective peut s'avérer nécessaire, mais augmente alors la durée de l'analyse.

Interférences spectrales

Elles sont produites par un élément possédant une raie ou une bande d'absorption identique ou proche de celle de l'élément à doser. Un choix convenable de la longueur d'onde permet en principe d'éliminer ce type d'interférence. On peut également utiliser une flamme plus chaude ou pratiquer une séparation de l'élément gênant.

Corrections des interférences

La réduction des interférences peut être abordée par différents moyens.

Pour la correction des interférences spectrales liées à des absorptions non spécifiques, les systèmes instrumentaux actuels proposent des dispositifs permettant une correction automatique de bonne qualité (arc au deutérium, effet Zeeman, systèmes Smith-Hieftje).

Les interférences physiques liées à la viscosité de l'échantillon sont facilement corrigées en ajoutant les mêmes quantités d'acide aux solutions étalons et aux échantillons.

Pour la réduction des interférences chimiques, une utilisation raisonnée de modificateurs chimiques conduit généralement à de bons résultats. Leur effet porte soit sur la matrice de l'échantillon (modificateurs de matrice) pour augmenter la volatilité des composés interférents, soit sur l'analyte lui-même, pour lui conférer une plus grande stabilité thermique. Parmi ces modificateurs on trouve l'hydrogénophosphate d'ammonium, le nitrate de magnésium, des sels de palladium, du chlorure de strontium ou de lanthane. Un mélange de palladium avec du nitrate de magnésium constitue un modificateur mixte, souvent considéré comme universel, le palladium permettant de réduire la volatilité initiale de l'analyte, alors que le nitrate de magnésium assure une aide pour la décomposition de la matrice par calcination.

Ces modificateurs mixtes de nitrate de palladium et de nitrate de magnésium sont disponibles dans le commerce.

Sensibilité et limites de détection : comparaison des modes d'atomisation

À ses débuts, la SAA était une méthode analytique essentiellement monoélémentaire, mais ses développements lui permettent maintenant de réaliser des analyses multiélémentaires, sans atteindre cependant

les performances (cadences et limites de détection) de la spectrométrie d'émission dans un plasma induit (ICP).

Pour un élément donné, la limite de détection de la méthode dépend d'une part de l'appareillage utilisé (type d'atomiseur en particulier) et de la technique mise en œuvre (nature de la flamme par exemple), mais aussi de l'élément analysé, de la complexité de la matrice de l'échantillon et de l'emploi de modificateurs chimiques. Dans le cas d'échantillons présentant une matrice simple, les limites de détection observées seront souvent assez voisines de celles indiquées par le constructeur de l'appareil. Par contre avec des matrices complexes, ces limites seront souvent difficilement atteintes.

D'une manière générale, on peut dire que la SAAF est souvent mieux adaptée aux concentrations les plus fortes, alors que la SAAE se distingue pour l'analyse des traces. Ces deux techniques permettent le dosage de plus de 30 éléments avec des limites de détection compatibles avec les objectifs de l'analyse des eaux naturelles.
Des exemples de limites de détection habituellement observées pour une trentaine d'éléments dans des matrices simples sont répertoriés dans le tableau suivant, qui précise les techniques les plus généralement mises en œuvre pour l'analyse de ces éléments. Ces limites de détection sont largement influencées par l'appareillage utilisé, par l'élément analysé ainsi que par la complexité de la matrice. Il peut aussi exister de grandes différences entre les limites de détection des instruments proposés par différents fabricants, de même qu'entre des appareils anciens et plus récents.

Élément	Longueur d'onde préconisée *nm*	Limites de détection* usuelles en spectrométrie d'absorption atomique selon le mode d'atomisation *ordre de grandeur en µg/L*				
		Avec flamme SAAF		Sans flamme (atomisation électrothermique en four graphite) SAAE	Conversion en hydrures	Vapeurs froides
		Flamme air/ acétylène	Flamme protoxyde d'azote/ acétylène			
Éléments majeurs						
Calcium Ca	422,7	5	5			
Magnésium Mg	285,2	5				
Sodium Na	589,0	5				
Potassium K	766,5	5				
Silicium Si	251,6	200	200			
Éléments traces						
Aluminium Al	309,3		50	1		
Antimoine Sb	217,6			1	0,2	
Argent Ag	328,1	10		0,5		
Arsenic As	193,7			1	0,2	
Baryum Ba	553,6		50	2		

Élément	Longueur d'onde préconisée *nm*	Limites de détection* usuelles en spectrométrie d'absorption atomique selon le mode d'atomisation *ordre de grandeur en µg/L*				
		Avec flamme SAAF		Sans flamme (atomisation électrothermique en four graphite) SAAE	Conversion en hydrures	Vapeurs froides
		Flamme air/ acétylène	Flamme protoxyde d'azote/ acétylène			
Césium Cs	852,1	20				
Chrome Cr	357,9	20	20	0,5		
Cobalt Co	240,7	30		1		
Cuivre Cu	324,7	5		0,5		
Étain Sn	224,6	200		1		
Fer Fe	248,3	20		1		
Lithium Li	670,8	5				
Manganèse Mn	279,5	10		1		
Mercure Hg					1	0,03
Molybdène Mo	313,3		20	1		
Nickel Ni	232,0	30		0,5		
Plomb Pb	283,3	30		0,5		
Sélénium Se	196,03			1	0,5	
Strontium Sr	460,7	10				
Titane Ti	365,3		300	5		
Vanadium V	318,4		200	5		
Zinc Zn	213,9	2		0,05		

** la limite de détection est définie comme la plus petite valeur pouvant être détectée, mais non quantifiée. Elle correspond en général à un signal triple de celui du bruit de fond et au tiers de la limite de quantification.*

Pour améliorer ces seuils de détection on pourra pratiquer une complexation par un agent chélatant (par exemple avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinodithiocarboxylique-1 ou APDC) suivie par une extraction liquide/liquide (souvent avec la méthylisobutylcétone MIBC). L'extrait est ensuite aspiré dans une flamme air/acétylène. L'extraction permet en général un facteur de concentration de 10, abaissant d'autant la limite de détection.

Remarques

– Pour le dosage de très faibles concentrations, l'ensemble des récipients d'échantillonnage et d'étalonnage devra être soumis à un protocole très strict de nettoyage, alternant des étapes de lavage (voire même de trempage) avec de l'acide (HCl 6 mol/L, puis HNO_3 0,1 mol/L) et des rinçages à l'eau.

– Si l'appareillage a été utilisé pour le dosage d'échantillons à fortes concentrations, des procédures de nettoyage et de vérification devront être mises en place avant analyse d'éléments traces.

Méthodes de référence

NF T90-020. Essais des eaux – Dosage du sodium et du potassium – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique. Août 1984.

NF T90-118. Essais des eaux – Dosage du baryum par spectrométrie d'absorption atomique – Méthodes avec et sans flamme. Août 1985.

NF EN 1233. Qualité de l'eau – Dosage du chrome par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-133). Septembre 1996.

NF EN ISO 5961. Qualité de l'eau – Dosage du cadmium par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-134). Septembre 1996.

NF EN ISO 11969. Qualité de l'eau – Dosage de l'arsenic – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (technique hydrure). (indice de classement T90-135). Septembre 1996.

NF T90-112. Qualité de l'eau – Dosage des huit éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme. Méthodes de dosage direct et après complexation et extraction. Juillet 1998.

NF EN ISO 7980. Qualité de l'eau – Dosage du calcium et du magnésium – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-005). Mars 2000.

NF EN ISO 12020. Qualité de l'eau – Dosage de l'aluminium. Méthode par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-138). Juin 2000.

NF EN ISO 15586. Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119). Mai 2004.

7.1.6 Spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction éventuellement associé à la spectrométrie de masse

La spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma appelée ICP (*Inductively Coupled Plasma*) est une technique, relativement récente qui offre des possibilités intéressantes : une sensibilité en général supérieure à la spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, peu d'interférences, la détermination simultanée de nombreux éléments sur les appareillages multicanaux. Elle peut être associée à la spectrométrie de masse (ICP/MS) qui a l'avantage d'offrir une grande sensibilité pour le dosage des traces et de permettre l'analyse de presque tous les éléments du béryllium à l'uranium.

■ Principe

L'analyse par spectrométrie d'émission atomique repose sur l'étude des radiations émises par les atomes passés dans un état excité, généralement ionisé. Pour dissocier les échantillons en leurs éléments constitutifs, on utilise ici un plasma.

Un plasma est un mélange gazeux à haute température de particules neutres (atomes, molécules) et de particules chargées (électrons, ions), ces dernières apportant au plasma ses propriétés. Le gaz utilisé en ICP est l'argon :

$$Ar \rightleftarrows Ar^{+} + e^{-}$$

Le plasma est engendré par transfert d'énergie électromagnétique du générateur d'ondes à haute fréquence aux gaz plasmagènes qu'il ionise en partie ; le plasma ainsi créé cède à son tour de l'énergie aux éléments introduits. Il semblerait que ce transfert d'énergie soit essentiellement collisionnel et dû aux atomes d'argon métastables. En effet, certains atomes d'argon excités ne repassent pas à l'état fondamental par désexcitation radiative mais passent par un état métastable de grande durée de vie ($\simeq$ 1 s). Leur désexcitation radiative étant impossible (règles de sélection du nombre quantique), seule une désexcitation collisionnelle interviendra.

La spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma couplée à la spectrométrie de masse associe la production d'ions dans un plasma haute fréquence et la détection par un spectromètre de masse. Divers systèmes d'introduction de l'échantillon sont proposés en plus des nébuliseurs classiques ou à ultrasons : dispositif de désolvatation ou vaporisation électrothermique. Le débit de matière dans le spectromètre de masse est très limité, ce qui oblige à utiliser des solutions diluées. Le plasma d'argon est généralement régulé et piloté par ordinateur. Sa stabilité est un élément essentiel de la précision des analyses. Le spectromètre de masse permet de doser pratiquement tous les éléments ; les interférences usuelles sont généralement corrigées automatiquement mais les constituants du plasma (Ar) et des solutions (H, O, et éventuellement N, P, S, Cl) constituent une difficulté pour le dosage des masses inférieures à 80. Les analyses sont soit quantitatives soit panoramiques. Les étalonnages sont différents : l'analyse panoramique fournit des résultats semi-quantitatifs grâce à une évaluation de la courbe de réponse dans le domaine de masse considéré. La technique du standard interne est largement employée.

Pour les analyses quantitatives on a la possibilité d'effectuer un étalonnage classique (courbe d'étalonnage ou ajouts dosés). Pour certains éléments on a aussi la possibilité d'effectuer une dilution isotopique à l'aide d'un traceur isotopique.

Une difficulté provient des différences de teneur entre les constituants d'un même échantillon : différentes techniques sont employées pour augmenter la gamme mesurable : plusieurs détecteurs, action sur la détection, changement de technique. Enfin les interférences les plus fines sont résolues grâce aux spectromètres de masse à secteur magnétique, les appareils plus courants étant équipés de quadripole.

En plus de la sensibilité, l'intérêt de la méthode réside dans la stabilité, la gamme de concentration ainsi que certains avantages pratiques (facilité d'emploi, traitement des résultats).

☐ Matériel

À l'aide d'un nébuliseur approprié, l'échantillon à analyser est introduit dans ce plasma où règnent des températures élevées (5000 à 8000 °C), ce qui provoque la dissociation totale des constituants des échantillons (désolvatation, atomisation et ionisation). Soumis à ces températures élevées, l'élément chimique est excité (comme en émission de flamme) et retourne à l'état fondamental en perdant son excédent d'énergie par émission de radiations qui lui sont caractéristiques. Pour un élément, cette émission optique des atomes conduit à un spectre d'émission complexe avec une multitude de radiations accompagnées d'un fond continu. Il est donc nécessaire de disposer de sys-

tèmes élaborés pour analyser ces spectres et accéder à une analyse multiélémentaire quantitative des constituants de l'échantillon.

Pour repérer les radiations spécifiques de l'élément à analyser on utilise en ICP un système optique pour séparer les différentes radiations émises (mono ou polychromateur). et un système de détection et amplification constitué d'un ou plusieurs photomultiplicateurs.

En ICP/MS, c'est le spectromètre de masse qui sépare et détecte les ions en fonction de leur rapport masse/charge. Les ions émis dans le plasma sont préalablement extraits du plasma par une interface sous vide.

Un spectromètre d'émission à plasma est généralement constitué :

– d'une source à plasma : générateur de haute fréquence (2 à 30 MHz) couplé inductivement à une torche généralement refroidie à l'eau ;

– d'un système de nébulisation : soit pneumatique, soit à ultrasons (ce qui améliore d'un facteur 10 environ la sensibilité) ;

– d'un mono ou polychromateur dans le cas d'analyse multiéléments ;

– d'un système de détection et amplification constitué d'un ou plusieurs photomultiplicateurs et d'un étage d'amplification.

Pour la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif, il faut disposer d'un spectromètre de masse permettant d'effectuer des analyses multiéléments et des analyses d'isotopes.

■ Mode opératoire

Pour le dosage d'éléments à l'état de traces, toute précaution devra être prise pour éviter la contamination des échantillons ou la perte d'éléments à doser.

– Flaconnage utilisé :

La stabilité des échantillons et des solutions étalon dépend, pour une large part, du matériau du flaconnage. Ce matériau doit donc être adapté en fonction des objectifs analytiques (gamme de concentration concernée). Pour les concentrations les plus élevées, des flacons en polyéthylène haute densité (PEHD) ou en polytétrafluoroéthylène (PTFE) conviendront, alors que le dosage de traces ou d'ultra-traces devra faire appel à des matériaux tels que le perfluoroalkoxy (PFA) ou encore polyhexafluoroéthène propène (FEP). Tous ces flacons seront nettoyés avant usage avec de l'acide nitrique concentré et chaud.

– Mise en œuvre de l'appareillage ICP ou ICP/MS :

Suivre les instructions fournies par le fabricant : paramètres et configurations de fonctionnement, stabilisation thermique, réglage et vérification des performances de l'instrument, étalonnage et contrôle d'étalonnage, rinçage…).

– Prétraitement des échantillons :

Acidifier l'échantillon immédiatement après le prélèvement, avec 5 mL d'acide nitrique concentré (d = 1,40) par litre d'échantillon. On doit obtenir un pH inférieur à 2.

– Dosage des éléments dissous :

L'échantillon acidifié doit être filtré dès que possible après le prélèvement sur une membrane de porosité 0,45 μm. Si un précipité s'était formé lors de l'acidification, on procédera à un ajout supplémentaire d'acide et/ou à un chauffage pour dissoudre ce précipité.

– Digestion des échantillons :

La concentration de certains éléments peut être sous-estimée dans des matrices complexes. Il est conseillé dans ce cas de pratiquer une digestion préalable de l'échantillon. Une digestion par l'acide nitrique est généralement recommandée, mais on peut également utiliser de l'eau régale (mélange de 2 volumes d'HCl et d'un volume d'HNO_3). Le protocole de digestion est le suivant :

– introduire 200 mL d'échantillon dans un bécher,

– ajouter 5 mL d'acide nitrique (d = 1,40),

– placer le bécher sur une plaque chauffante sous une hotte et évaporer à sec,

– reprendre le résidu par 20 mL d'acide nitrique (d = 1,40) et chauffer,

– ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique et 5 mL d'eau ultra-pure,

– porter à ébullition,

– après refroidissement, transférer dans une fiole jaugée de volume V et compléter au volume avec de l'eau ultra-pure.

Le volume V choisi pour reprendre l'échantillon après digestion pourra être adapté en fonction des besoins, une reprise dans un volume plus petit que le volume initial (200 mL) permettant de concentrer l'échantillon.

■ Préparation des solutions d'étalonnage

– Solutions mères :

Des solutions étalons de référence sont disponibles dans le commerce. Ce sont des solutions mères mono- ou multiéléments et leur concentration est en général de 1 000 mg/L pour chaque élément. Elles contiennent normalement de l'acide (chlorhydrique ou nitrique) et peuvent se conserver plusieurs mois.

– solutions étalons intermédiaires :

Ces solutions étalons de concentrations intermédiaires sont obtenues par dilution des solutions mères et serviront à la préparation de la gamme d'étalonnage. Elles sont mono ou le plus souvent multiéléments et leur concentration est souvent de 10 mg/L pour chaque élément.

Pour leur préparation, on utilisera une fiole jaugée de 1 000 mL et on procédera comme suit :

– Introduire 10 mL de chacune des solutions mères à 1 000 mg/L concernée.

– Ajouter 5 mL d'acide nitrique concentré (d = 1,40).

– Compléter à 1 000 mL avec de l'eau ultra-pure.

Le mélange de certains sels peut provoquer des réactions chimiques (précipitation le plus souvent). Mais on peut généralement préparer les solutions contenant le mélange des éléments suivants :

– Au, Mo, Sb, Sn, Zr,

– As, Se, Sb, Sn, Ti,

– Al, Be, Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Li, Mn, Mo, Ni, Si, Sr, Zn, V, Zr,

– Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, Se, Sr, Th, Tl, U, V, Zn.

– Gamme d'étalonnage :

Les solutions intermédiaires sont utilisées pour préparer les solutions d'étalonnage dans la gamme de travail choisie. En général la gamme de travail peut s'étendre entre 0,1 à 50 μg/L.

– Blanc d'étalonnage :

Il se prépare en ajoutant à de l'eau ultra-pure 5 mL d'HNO_3 (d = 1,40) par litre.

– Solutions d'optimisation :

En ICP/MS, des solutions multiéléments sont proposées par les fabricants pour l'étalonnage des masses et pour contrôler les conditions de fonctionnement des appareillages.

– Éléments de référence (étalons internes)

En ICP/MS, des éléments de référence sont utilisés pour réduire les effets de matrice et la dérive. Leurs masses doivent être proches de celles des éléments à analyser. Ils sont ajoutés dans les solutions avant la mesure.

■ Méthodes de mesure

Les concentrations en masse pour chaque élément sont données par le système d'acquisition de données de l'appareillage, par référence aux solutions d'étalonnage.

Pour obtenir la concentration de chaque élément dans l'échantillon, il faut :

– soustraire les valeurs des blancs d'étalonnage,

– intégrer dans le calcul les éventuelles dilutions pratiquées sur l'échantillon,

– prendre en compte en ICP les interférences spectrales et corriger les signaux selon les préconisations du fabricant.

■ Interactions

Les différents types d'interactions que l'on peut rencontrer en ICP sont :

– les interférences spectrales : il peut y avoir superposition des raies. Comme à cela, s'ajoute un effet d'élargissement des raies dû aux effets Doppler, Lorentz et Stark, il est nécessaire d'avoir un appareil très dispersif, sans lumière parasite, le pouvoir de résolution n'étant pas un facteur limitant dans ce cas. Les interférences spectrales peuvent être corrigées par la lecture sur un isotope non interféré : l'addition d'acide sulfurique entraîne un déplacement du pic.

Dans le cas de composés monoisotopiques, une isolation de la matrice est nécessaire ;

– les interactions physiques : dues à la matrice, elles affectent la viscosité ou la tension superficielle donc font varier la vitesse de nébulisation ;

– les interactions de désolvatation par redissolution partielle des particules solides d'aérosol dans le solvant recondensé ;

– les interactions dites de volatilisation : les transferts thermiques peuvent varier suivant l'état de l'élément et la présence de tiers éléments, cette variation étant à l'origine d'effets de volatilisation qui induisent à leur tour des effets d'atomisation et d'ionisation.

Le choix de la hauteur d'observation d'une part, l'augmentation de la puissance appliquée, permettent sinon de supprimer, du moins d'atténuer très sérieusement ce type d'interactions.

Dans le cas de l'ICP/MS, il peut se produire des interférences dues aux ions isobares et aux ions à doublet de charge. Elles sont provoquées par des isotopes de différents éléments ayant le même rapport nominal masse/charge et que la résolution du spectromètre de masse ne permet pas de séparer. Pour les détecter et les corriger, il est recommandé de déterminer plusieurs isotopes d'un même élément ou d'apporter une correction mathématique. Des interférences non isobares liées aux ions polyatomiques peuvent aussi être rencontrées. Dans ce cas, des équations de correction sont généralement proposées.

Limites de détection usuelles

Les limites de détection dépendent de la matrice de l'échantillon et des interférences rencontrées. Elles sont également influencées par l'appareillage utilisé ainsi que par la qualité des installations de traitement de l'air des laboratoires qui conditionne la contamination des blancs.

Dans les eaux naturelles, les limites de détection varient généralement :

– en ICP, entre 1 et 10 μg/L pour la majorité des éléments dosés,

– en ICP/MS, entre 0,01 et 0,1 μg/L pour la plupart des éléments.

Le tableau suivant donne des exemples de limites de détection qui peuvent être obtenues en ICP et ICP/MS.

Élément	ICP		ICP/MS	
	Longueurs d'onde habituellement utilisées nm	Limite de détection usuelle* µg/L	Isotope habituellement utilisé	Limite de détection usuelle* µg/L
Ag	328,068 328,289	1	^{107}Ag ^{109}Ag	0,005
Al	396,153 308,215	3	^{27}Al	0,05
As	188,973 193,696	5	^{75}As	0,03
B	208,959 249,678	2	^{10}B ^{11}B	1

Élément	ICP		ICP/MS	
	Longueurs d'onde habituellement utilisées nm	Limite de détection usuelle* µg/L	Isotope habituellement utilisé	Limite de détection usuelle* µg/L
Ba	233,527 455,403	0,3	^{137}Be ^{138}Be	0,05
Bi	223,061	10	^{209}Bi	0,05
Ca	315,887 317,933 393,366	100 20 2	^{43}Ca ^{44}Ca ^{40}Ca	10 2 1
Cd	214,438 228,502	0,3	^{111}Cd ^{114}Cd	0,05
Co	228,616	1	^{59}Co	0,01
Cr	205,552 267,716	1	^{52}Cr ^{53}Cr	0,01
Cu	324,752 327,396	1	^{63}Cu ^{65}Cu	0,02
Fe	259,940 238,204	1	^{56}Fe	0,5
K	766,490 769,000	20	^{39}K	10
Li	670,784	2	^{6}Li ^{7}Li	0,1
Mg	279,079 285,213	20	^{24}Mg ^{25}Mg	0,2
Mn	257,610 259,372	0,5	^{55}Mn	0,05
Mo	202,030 204,598	5	^{95}Mo ^{96}Mo	0,1
Na	589,592 588,995	2	^{23}Na	5
Ni	231,604 221,648	2	^{58}Ni ^{60}Ni	0,005
P	177,499 213,604	20 50	^{60}P	2
Pb	220,353 217,000	5	^{206}Pb ^{207}Pb ^{208}Pb	0,005

Élément	ICP		ICP/MS	
	Longueurs d'onde habituellement utilisées nm	Limite de détection usuelle* µg/L	Isotope habituellement utilisé	Limite de détection usuelle* µg/L
Sb	206,833 217,600	20	^{121}Sb ^{123}Sb	0,005
Se	196,026 203,985	20	^{77}Se ^{78}Se ^{82}Se	0,1
Si	251,611	10		
Sn	235,848 189,980	50	^{118}Sn ^{120}Sn	0,01
Sr	407,771 421,552	0,5 10	^{86}Sr ^{88}Sr	0,02
V	290,882 292,402	1	^{51}V	0,01
Zn	206,191 213,857	1	^{64}Zn ^{66}Zn ^{68}Zn	0,02

** la limite de détection est définie comme la plus petite valeur pouvant être détectée, mais non quantifiée. Elle correspond en général à un signal triple de celui du bruit de fond et au tiers de la limite de quantification.*
§ dosage possible par ICP avec un appareillage adapté.

Méthodes de référence

NF EN ISO 11885- Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136). Janvier 2007.

NF EN ISO 17294-1. – Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163), Janvier 2007.

NF EN ISO 17294-2. – Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164), Avril 2005.

7.1.7 Électrodes ioniques spécifiques-Potentiométrie

■ Principe

Le principe d'un dosage potentiométrique consiste à mesurer la différence de potentiel entre 2 électrodes plongées dans une solution :

– une électrode de référence, qui assure un potentiel constant par rapport à celui de la solution. Il s'agit parfois d'une électrode au calomel (mercure/chlorure mercureux), mais le plus souvent d'une électrode à l'argent/chlorure d'argent,

– une électrode ionique sélective comportant une membrane perméable au seul composé à analyser.

La différence de potentiel existant entre une électrode spécifique et une électrode de référence placées dans une même solution est une fonction de l'activité des ions correspondant à l'électrode spécifique. Le potentiel de l'électrode est en effet lié à l'activité des ions présents par la relation dérivée de l'expression de NERNST :

$$E = E_0 + 2{,}3\,\frac{RT}{nF}\log a_i$$

E = Potentiel mesuré.

E_0 = Constante dépendant du choix de l'électrode de référence et des solutions internes.

R = Constante des gaz (= 8,314 $J.mol^{-1}.K^{-1}$).

T = Température absolue (K).

n = Charge de l'ion.

F = Constante de Faraday (96 500 C).

a_i = Activité de l'ion dans l'échantillon.

Le potentiel mesuré avec les électrodes spécifiques dépend donc de l'activité et non uniquement de la concentration de l'espèce mesurée. L'activité a_i d'un ion i est reliée à sa concentration par la relation $a_i = \gamma_i . C_i$, dans laquelle γ_i représente le coefficient d'activité, qui dépend de la force ionique totale de la solution. Dans le cas de solutions diluées, le coefficient d'activité γ_i est constant pour une force ionique donnée (loi de Debye-Hückel).

Pour obtenir une force ionique constante lors du dosage des espèces, il a été choisi d'ajuster la force ionique du milieu de mesure à l'aide d'une solution tampon de force ionique élevée (appelé tampon d'ajustement de la force ionique ou électrolyte support). Dans ces conditions, la différence de potentiel mesurée à une température donnée ne dépend que de la concentration de l'espèce à analyser :

$$E_{mesuré} = E_I + 2{,}303\,\frac{RT}{nF}\log C_i$$

avec RT/nF égal à 0,059 Volt à 25 °C.

Cette équation permet de quantifier l'espèce, par le biais de l'utilisation d'une courbe d'étalonnage : E = f ([C]). Cette courbe est normalement une droite en coordonnées semi-logarithmiques.

Cette solution tampon permet également de fixer le pH de la mesure, puisque chaque électrode spécifique fonctionne dans une gamme de pH déterminé.

□ **Matériel**

Électrode de référence

Électrodes spécifiques

On distingue :

– les électrodes à membrane de verre, dont l'exemple type est constitué par l'électrode de mesure de *p*H. Elles sont bon marché et ont une durée de vie importante. Elles sont sujettes à des interférences vis-à-vis des ions H^+ ;

– les électrodes à membrane liquide dans lesquelles un échange ionique se produit au niveau d'une interface liquide-liquide entraînant une différence de potentiel variant avec la différence de concentration entre la phase de référence et le milieu extérieur. Ces électrodes sont moins sujettes aux interférences que les précédentes ; leur longévité est de l'ordre de quelques dizaines d'heures mais varie avec la nature du milieu dans lequel s'effectue la mesure. Elles doivent donc être rechargées périodiquement, ce qui peut constituer un obstacle à leur utilisation dans des stations de contrôle en continu ;

– les électrodes à membrane organique solide. Leur principe de fonctionnement est similaire à celui des électrodes à membrane liquide mais leur durée d'utilisation est nettement plus élevée (une centaine d'heures en moyenne) ; de plus, leur recharge ne présente aucune difficulté ;

– les électrodes à membrane solide non organique qui constituent actuellement le matériel le plus utilisé, tant en raison de leur facilité d'emploi que de leur fiabilité. La « membrane » est constituée par un sel insoluble de l'ion à mesurer. Celui-ci peut revêtir des formes très variées : monocristal simple, pastilles, … Un exemple type concerne l'électrode spécifique des ions fluorure, qui est constituée d'un monocristal de trifluorure de lanthane dopé avec un sel d'europium. Les atomes de fluor peuvent se déplacer dans le réseau cristallin qui se comporte donc comme une membrane pour les ions fluorure.

Dispositif électronique de mesure

Constitué par un millivoltmètre à très haute impédance d'entrée, une sensibilité voisine de 0,1 mV, et éventuellement équipé d'un dispositif enregistreur permettant de contrôler le fonctionnement dans le temps.

■ Mode opératoire

Une force ionique constante et identique dans toutes les solutions (échantillons et étalons) est assurée en mélangeant soigneusement avant la mesure V_{mL} de la solution à analyser avec V_{mL} de la solution tampon d'ajustement.

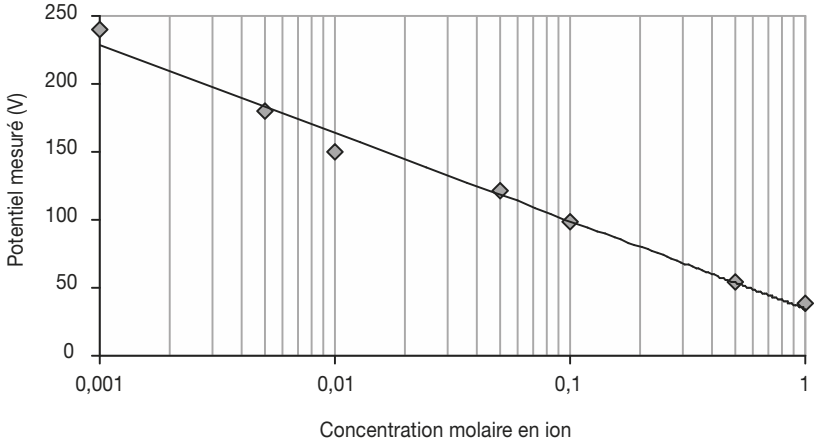
Le potentiel de l'électrode est fonction de la température, la variation étant de l'ordre de 0,5 % par degré Celsius. Pour pallier cette variation, toutes les déterminations seront effectuées à la même température.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Utiliser pour cette opération des solutions étalons de concentration voisine de celle de l'élément à doser et de même force ionique. Il existe dans le

commerce des solutions étalons qui présentent l'avantage d'être parfaitement adaptées (*p*H, force ionique, etc.) à l'électrode correspondante. On peut également utiliser la méthode des ajouts dosés.

Un exemple de courbe d'étalonnage est présenté ci-dessous pour des concentrations molaires d'un ion comprises entre 10^{-3} et 1 mol/L.



Mesure

La mesure s'effectue en plongeant les deux électrodes dans la solution à analyser. Lire la différence de potentiel engendrée. Se reporter à la courbe d'étalonnage pour déterminer la concetration ou utiliser la méthode des ajouts dosés.

■ Limites de détection et interférences

La limite de détection est fonction de la solubilité de l'élément sensible ou du liquide échangeur d'ions dans la solution à mesurer. Certains ions sont instables en solution diluée (les sulfures par exemple) ; leur dosage à faible concentration n'est praticable qu'à condition de tamponner la solution par rapport à l'ion à doser : l'ion libre est alors en équilibre avec l'ion complexé.

Au-delà d'une concentration donnée le dosage n'est plus possible dans des conditions satisfaisantes, en raison :

– de la disparition de la perméabilité sélective pour les électrodes à membrane ;

– de la saturation de la solution pour les électrodes à cristal.

En fait la concentration dans la solution à mesurer ne doit pas, en général, dépasser 1 M.

Le dosage par électrodes spécifiques est sujet à de nombreuses interférences, qui limitent leur champ d'application, même si de nombreuses procédures permettent de limiter ces interférences (par exemple le choix d'un pH) ou d'éliminer l'ion gênant.

Le tableau ci-dessous présente quelques exemples d'éléments dosables par électrodes spécifiques, en indiquant l'ordre de grandeur de la limite de

détection, ainsi que quelques éléments susceptibles d'interférer lors de l'analyse des eaux.

Ions	Limite de détection *Ordre de grandeur* (mg/L)	Interférences possibles
Br^-	0,1	I^-, Cl^-, OH^-, $S_20_3^{2-}$, S^{2-}, CN^-…
F^-	0,01	OH^-
I^-	0,01	Br^-, Cl^-, $S_20_3^{2-}$, S^{2-}, CN^-, CO_3^{2-}…
Cl^-	1	I^-, Br^-, S^{2-}, CN^-…
NO_3^-	0,2	I^-, Br^-, Cl^-, SO_4^{2-}, CO_3^{2-}, NO_2^-…
CN^-	0,01	en l'absence d'une distillation et d'un traitement préalables: Cl^-, Br^-, I^-, S^{2--}, CO_3^{2-}…
S^{2--}	0,01	Hg^{2+}
Ca^{2+}	0,1	Mg^{2+}, Na^+, K^+, NH_4^+, Fe^{2+}, Zn^{2+}, …
NH_4^+	0,02	Na^+, K^+, Ca^{2+}, …
K^+	0,05	Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, NH_4^+, ...

Méthode de référence

NF T 90-004 (août 2002). Qualité de l'eau – Dosage de l'ion fluorure – Méthode potentiométrique.

Remarques

– Les électrodes spécifiques présentent un temps de réponse qui peut aller de quelques secondes à plusieurs dizaines de minutes et qui varie avec la nature de l'électrode, l'activité ionique mesurée et la composition du milieu. Elles peuvent par ailleurs présenter un effet de mémoire.

– Les électrodes spécifiques à échangeurs d'ions liquides sont sensibles au *p*H. Les électrodes à cristal ne le sont pas, sauf celles utilisées pour le dosage du sodium (gamme de *p*H 1 à 12), des fluorures (*p* H 0 à 8,5) et des chlorures (*p* H 2 à 10).

– Les électrodes à membrane cristalline ont, dans des conditions normales d'utilisation (solutions diluées, température ambiante) une durée de vie de l'ordre de 1 à 2 ans. Dans le cas contraire (solutions concentrées, température élevée) cette durée de vie peut tomber à 1 mois. Les électrodes à membranes et à échangeurs d'ions liquides doivent être rechargées, du fait de la solubilité dans l'eau de l'échangeur. Cette opération se renouvelle tous les 1 à 3 mois environ. Ce type d'électrode est généralement vendu accompagné d'une réserve de liquide et de membranes.

7.1.8 Analyse par activation (*)

Cette méthode moderne présente l'avantage d'être rapide, et de permettre le dosage de plusieurs éléments avec une seule activation sur des prélèvements relativement faibles. De plus, l'analyse des éléments peut être pratiquée quelle que soit la forme chimique sous laquelle ils se trouvent. Enfin, l'analyse par activation se caractérise par une grande sensibilité et une bonne précision. En raison de la nécessité de la mise en œuvre de moyens importants, son utilisation en hydrologie est relativement récente. Du fait que l'on dispose, avec les méthodes habituelles, de possibilités analytiques très satisfaisantes pour le dosage des éléments présents dans l'eau en quantités significatives, son emploi est plus particulièrement intéressant pour l'identification et le dosage d'éléments à l'état de traces, pour lesquels les méthodes classiques atteignent leur limite.

Nous ne nous étendrons pas sur la technologie de cette méthode, qui nécessite pour son application des conditions particulières réservées à des laboratoires très spécialisés ayant à leur disposition un réacteur ou un accélérateur de particules.

7.2 Aluminium (référence de qualité « Eau potable »)

La méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire est une méthode courante de laboratoire mais pour éviter des problèmes posés par les ions interférents (fluor, phosphates, etc.), il est préférable d'utiliser les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique avec ou sans flamme et par spectrométrie d'émission atomique avec plasma à couplage inductif.

7.2.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.1.

En milieu tampon acétique, l'aluminon ou aurine tricarboxylate d'ammonium donne avec les sels d'aluminium une coloration rouge susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ **Matériel spécial**

– Spectromètre (§ A-7.1.1).
– Bain-marie.

□ **Réactifs**

– Solution aqueuse de paranitrophénol à 1 %.
– Solution d'acide chlorhydrique *N*.
– Solution d'hydroxyde d'ammonium *N*.
– Solution d'acide thioglycolique à 1 %.

(*) Cf. Suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

– Solution d'aluminon tamponnée :

acétate d'ammonium	133 g
acide chlorhydrique	126 mL
aluminon	0,9 g
gomme arabique	10 g

Dissoudre chaque réactif séparément dans 100 mL d'eau déionisée, puis mélanger les solutions dans l'ordre ci-dessus. Compléter le volume à 1 000 mL. Laisser au repos 12 heures puis filtrer. Le *p*H de la solution doit être compris entre 3,8 et 4.

– Solution mère étalon d'aluminium à 100 mg/L :

sulfate double d'aluminium et de potassium [AlK $(SO_4)_2$, 12 H_2O]		1,759 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Le sulfate double d'aluminium et de potassium est dissous dans de l'eau légèrement acidifiée par de l'acide sulfurique. Ajuster ensuite le volume à 1 000 mL.

– Solution fille étalon d'aluminium à 5 mg/L.

Diluer au 1/20 la solution précédente.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles coniques, introduire successivement :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon d'aluminium à 5 mg/L (mL)	0	2	4	6	8	10
Eau déisonisée (mL)	50	48	46	44	42	40
Correspondance en mg/L d'aluminium	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Solution de *p*-nitrophénol (goutte)	1	1	1	1	1	1

Si une coloration jaune se développe, ajouter de l'acide chlorhydrique *N* jusqu'à disparition de la couleur jaune. Au cas où aucune coloration ne se développe, ajouter de l'hydroxyde d'ammonium *N* jusqu'à l'obtention d'une coloration jaune naissante.

Ajouter ensuite dans chaque fiole en agitant après l'addition de chaque réactif :

– solution d'acide thioglycolique 2 mL ;

– solution d'aluminon tamponnée 10 mL.

Placer les fioles coniques au bain-marie bouillant 15 minutes, les refroidir à une température comprise entre 20-25 °C puis transvaser leur contenu dans une série de fioles jaugées de 100 mL, ajuster le volume avec de l'eau permutée.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 525 nm.

Soustraire des unités d'absorbance lues pour les étalons la valeur relevée pour le témoin. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire dans une fiole conique de 250 mL, 50 mL d'eau à analyser puis 1 goutte de solution de paranitrophénol, poursuivre le dosage comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 50 mL d'eau déionisée. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 525 nm. Soustraire de l'unité d'absorbance lue pour l'essai la valeur indiquée pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en aluminium, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– Le dosage est à effectuer le plus tôt possible après le prélèvement.

– La précision de la méthode est limitée car les résultats varient avec la grosseur des grains de la laque, le *p*H, le temps et les éléments associés. Le *p*H 4 doit être correctement fixé grâce à la solution tampon. Les concentrations en sels et en réactifs doivent être rigoureusement constantes. Il en est de même pour la température et le temps au bout duquel est faite la spectrométrie.

– La méthode est utilisable pour des teneurs en aluminium allant de 0,02 à 1 mg/L. Pour des teneurs plus élevées, pratiquer une dilution.

– L'acide thioglycolique élimine l'interférence due au fer.

– Les fluorures et les polyphosphates gênent la réaction. Les fluorures sont éliminés en traitant l'échantillon d'eau de la façon suivante ; évaporer à siccité le prélèvement, reprendre le résidu par 5 mL d'acide sulfurique concentré, évaporer à siccité avec précaution. Faire une fusion alcaline en ajoutant 0,5 g de carbonate de sodium. Reprendre le résidu obtenu par de l'acide chlorhydrique. Ajuster le volume et effectuer le dosage comme précédemment. Les polyphosphates sont détruits en traitant le prélèvement à l'ébullition en présence d'acide sulfurique.

– Les sulfites, à des concentrations supérieures à 10 mg/L, doivent être détruits par 3 % d'eau oxygénée.

– Le chlore résiduel est à éliminer par quelques gouttes de solution de thiosulfate de sodium.

– Le calcium conduit à des erreurs par excès.

7.2.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

Réactifs

Se reporter au § A-7.1.5.

– Solution mère étalon d'aluminium à 100 mg/L.

Se reporter au § A-7.1.4.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 100 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 309,3 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'aluminium par litre.

Remarques

– La limite de détection est de 50 µg/L.

– La complexation de l'aluminium avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (A-7.26).

7.2.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

Se reporter au § A-7.1.5.

– Solution mère d'aluminium à 1 g/L :

aluminium		1 g
acide chlorhydrique		15 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon à 1 mg/L.

Diluer au 1/1 000 la solution mère étalon précédente.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution étalon, des dilutions (4) couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 à 20 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) entre 1 400 °C (sans modificateur) et 1 700 °C (avec modificateur) pendant 15 secondes, puis atomiser à la température comprise entre 2 350 °C (sans modificateur) et 2 500 °C (avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 309,3 nm.

Remarque

La limite de détection est de 1 µg/L (avec 20 µL d'injection).

7.2.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ Réactifs

– Solution mère étalon d'aluminium à 100 mg/L :

aluminium métal	100 mg
acide chlorhydrique dilué au demi	14 mL
acide nitrique concentré	1 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

Dans un bécher, introduire l'aluminium et un mélange de 4 mL d'acide chlorhydrique dilué au demi et 1 mL d'acide nitrique concentré. Chauffer légèrement pour obtenir la dissolution. Ajouter 10 mL d'acide chlorhydrique dilué au demi. Transvaser la solution dans une fiole de 1 L, rincer le bécher avec de l'eau, l'ajouter à la solution, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 308,21 nm en ICP ou sur l'isotope ^{27}Al en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 3 µg/L en ICP et 0,005 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

NF EN ISO 12020 (juin 2000). Qualité de l'eau – Dosage de l'aluminium – Méthodes par spectrométrie d'absorption atomique (Indice de classement T 90-138).

NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments

traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119).

NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qaulité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (Indice de classement T90-136).

NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : dosage de 62 éléments (Indice de classement T90-164).

7.3 Ammonium

Le choix de la méthode est déterminé par la concentration en ions ammonium qui est très variable et la présence d'ions interférents tels que chlorures, fer, amines, matières organiques, etc.

En général, Les méthodes sans entraînement à la vapeur préalable sont réservées aux eaux d'alimentation, aux eaux de surface et aux eaux usées peu chargées. Ce sont ces méthodes qui sont présentées ici. Le dosage est alors effectué de préférence par la méthode au bleu d'indophénol ou par la méthode potentiométrique. Un entraînement à la vapeur préalable s'impose dans les autres cas et les méthodes titrimétrique, par spectrométrie d'absorption moléculaire (Nessler, bleu d'indophénol) ou potentiométrique sont utilisables ; toutefois, en présence de fortes teneurs, la méthode titrimétrique est la mieux adaptée.

Au cours des opérations d'analyse, vérifier que les filtres ou les membranes filtrantes utilisés n'introduisent pas d'ions ammonium.

7.3.1 Méthode au bleu d'indophénol

■ Principe

En milieu alcalin et en présence de nitroprussiate qui agit comme un catalyseur, les ions ammonium traités par une solution de chlore pour les transformer en monochloramine (NH_2Cl) et de phénol donnent du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage par spectrométrie d'absorption moléculaire.

☐ Prélèvement

Conserver l'échantillon à 4 °C et effectuer le dosage le plus rapidement possible après le prélèvement dans un délai ne dépassant pas 48 heures.

☐ Matériel spécial

Laver toute la verrerie avec une solution d'acide chlorhydrique à 5 %, la rincer à l'eau déionisée.

☐ Réactifs

Utiliser pour la préparation des réactifs de l'eau fraîchement déionisée.

– Solution chlorée :

hydroxyde de sodium en pastilles	20 g
citrate trisodique ($Na_3C_6H_5O_7$, 2 H_2O)	380 g

acide dichlorocyanurique ($C_3HCl_2N_3O_3$)		4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre l'hydroxyde de sodium et le citrate trisodique dans 800 mL d'eau environ.

Porter la solution à l'ébullition, maintenir celle-ci pendant 20 min.

Après refroidissement, ajouter l'acide dichlorocyanurique et ajuster le volume à 1 000 mL.

Conserver cette solution au réfrigérateur.

– Solution de nitroprussiate de sodium et de phénol :

phénol		35 g
nitroprussiate de sodium ($Na_2Fe(CN)_5NO$, 2 H_2O)		0,4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Transvaser cette solution dans un flacon en verre brun et la conserver au réfrigérateur.

– Solution mère étalon à 100 mg/L d'ions ammonium :

chlorure d'ammonium		297 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon à 1 mg/L d'ions ammonium.

Diluer la solution mère au 1/100. Préparer cette solution au moment de l'emploi.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de dilutions de la solution fille, des étalons (5 ou 6) dans la gamme de concentrations souhaitées.

Dans une série de fioles coniques de 100 mL numérotées, introduire 20 mL de chacune des dilutions ci-dessus, ajouter rapidement dans chaque tube :

1 mL de solution de nitroprussiate de sodium et de phénol,

1 mL de solution chlorée.

Agiter et placer les fioles à l'obscurité pendant 6 heures au moins. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 630 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire dans une fiole conique de 100 mL, 20 mL d'eau à analyser puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 20 mL d'eau déionisée. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 630 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 20 mL, la courbe donne directement la teneur en ions ammonium, exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– La méthode est applicable à des concentrations comprises entre 1,5 et 15 µg/L d'ions ammonium en utilisant des cuves de 50 mm et à des teneurs élevées jusqu'à 50 mg/L en supprimant l'addition de nitroprussiate.

– Si l'échantillon contient de l'hydrogène sulfuré à une concentration supérieure à 2 mg/L, la méthode n'est applicable qu'après son élimination. Pour cela, acidifier le prélèvement à *p*H 3 avec de l'acide chlorhydrique dilué, faire barboter de l'air jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'odeur perceptible d'hydrogène sulfuré puis effectuer le dosage après avoir neutralisé le prélèvement avec une solution d'hydroxyde de sodium.

– L'acide dichlorocyanurique peut être remplacé par une solution d'hypochlorite de sodium.

– En présence d'eaux troubles ou colorées, la méthode n'est pas utilisable sauf si trouble et couleur sont supprimés par dilution.

– La stabilité de la coloration permet d'effectuer l'addition des réactifs sur le lieu de prélèvement.

– Dans le cas d'un traitement de chloration qui n'est pas conduit au « Break Point » la monochloramine peut interférer.

7.3.2 Méthode potentiométrique

■ Principe

La mesure de l'activité ionique de l'ammoniac dans des conditions expérimentales bien définies de concentration en ions et de *p*H, permet de déterminer la concentration en ammonium dans l'eau.

☐ Matériel spécial

– Électrode spécifique.
– Appareil de mesure.
– Agitateur électro-magnétique.

☐ Réactifs

– Eau déionisée exempte d'ions ammonium.
– Solution d'hydroxyde de potassium à 5,6 g/L.
– Solution mère étalon d'ammonium à 1g/L :

chlorure d'ammonium		2,97 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon d'ammonium à 100 mg/L :

Diluer au 1/10 la solution précédente.

– Solution fille étalon d'ammonium à 10 mg/L :

Diluer au 1/100 la solution à 1 g/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de dilutions de la solution fille, les étalons dans la gamme de concentrations souhaitées (par exemple de 0,1 à 10 mg/L d'ammonium).

Introduire 25 mL de chaque solution dans un bécher de 100 mL, ajouter 25 mL de solution d'hydroxyde de potassium. Placer le bécher sur l'agitateur et immerger rapidement l'électrode, la laisser se stabiliser puis effectuer la lecture. Tracer la courbe d'étalonnage sur papier millimétré semi-logarithmique.

Mode opératoire

Introduire 25 mL d'eau à analyser dans un bécher de 100 mL puis procéder comme pour la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 25 mL, la courbe donne directement la teneur en ammonium exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– Les mesures (courbe d'étalonnage et échantillon) doivent être effectuées à la même température.

– Effectuer les mesures rapidement après l'addition de la solution d'hydroxyde de potassium, l'ammoniac est facilement déplacé des solutions basiques.

7.3.3 Méthode par flux continu

Principe

En présence d'un catalyseur, le nitroprussiate de sodium, l'ion ammonium réagit avec le chlore et le salicylate de sodium en milieu basique et donne une coloration dite bleu d'indophénol susceptible de dosage spectrométrique.

Réactifs

– Solution de salicylate de sodium :

salicylate de sodium		150 g
nitroprussiate de sodium		0,3 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL
tensioactif non ionique type POE 23 lauryl éther		1 mL

À renouveler tous les jours.

– Solution chlorée :

dichlorocyanurate de sodium		2 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL
tensioactif non ionique type POE 23 lauryl éther		1 mL

– Solution tampon :

chlorure de potassium		33,6 g
hydroxyde de sodium		11,8 g
tartrate de sodium et de potassium		50 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL
tensioactif non ionique type POE 23 lauryl éther		1 mL

– Solution mère étalon à 1 g/L d'ammonium :

chlorure d'ammonium		2,97 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon à 0,010 g/L d'ammonium.

Diluer au 1/100 la solution mère avec de l'eau permutée.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille étalon une série de dilutions comprises entre 0 et 1,5 mg/L d'ammonium. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire, construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.2.

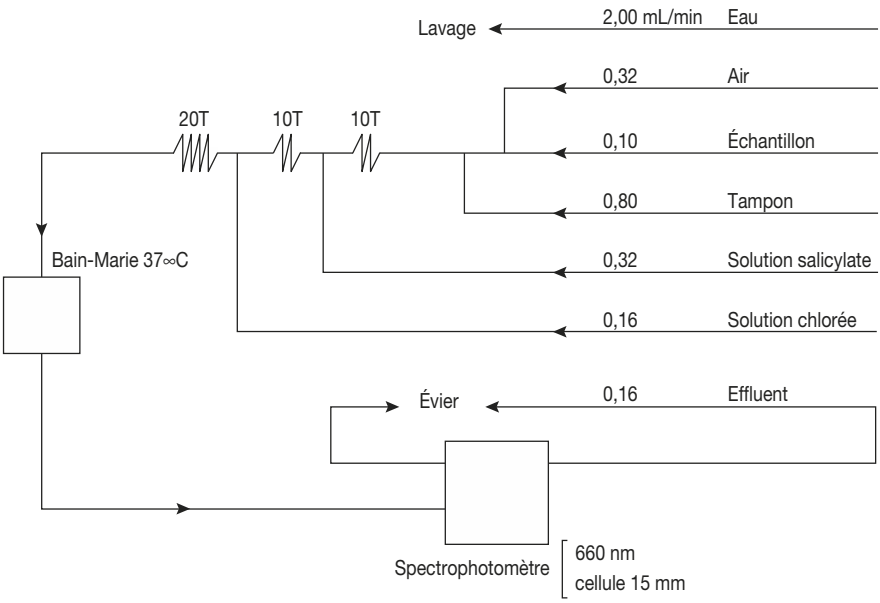


Schéma d'utilisation

Se reporter au schéma d'utilisation. La cadence des déterminations est de 30 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 1 minute pour une prise d'échantillon de 1 minute. Faire fonctionner l'appareil avec les réactifs et de l'eau permutée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 660 nm.

Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en ammonium exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– La solution de salicylate est introduite la dernière et arrêtée la première pour éviter la précipitation du salicylate à un *p*H trop faible.

– Dans le cas d'eaux salées, utiliser une solution complexante de tartrate.

– Cette méthode est applicable aux eaux de mer en préparant la gamme étalon avec de l'eau de mer artificielle.

7.3.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

7.3.5 Méthode titrimétrique

Se reporter au § A-9.6.

7.3.6 Méthode de Nessler

Se reporter au § D-2.13.

Méthodes de référence

Se reporter également au § A-7.1.3.

AFNOR NF T90-015-1 (janvier 2000). Qualité de l'eau – Dosage de l'ammonium – Partie 1 : méthode par titrimétrie après entraînement à la vapeur.

AFNOR NF T90-015-2 (janvier 2000). Qualité de l'eau – Dosage de l'ammonium – Partie 2 : méthode spectrométrique au bleu d'indophénol.

7.4 Antimoine (limite de qualité « Eau potable »)

7.4.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (atomisation électrothermique) avec four graphite

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

Utiliser des réactifs de qualité p.a.

– Solution d'acide sulfurique à 5 % :

acide sulfurique (d = 1,84)		5 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de diéthylammonium NN diéthyldithiocarbamate à 2 % :

diéthylammonium NN diéthyldithiocarbamate		2 g
chloroforme p.a.	*q.s.p.*	100 mL

À préparer extemporanément.

– Solution d'acide ascorbique :

iodure de potassium		15 g
acide ascorbique		2,5 g
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de nitrate de nickel :

nitrate de nickel ($Ni\ NO_3$, 6 H_2O)		2,5 g
peroxyde d'hydrogène (110 vol.) dilué au demi avec de l'eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution mère étalon d'antimoine à 1 g/L :

tartrate d'antimoine et de potassium		2,7426 g
eau déionisée ou ulta-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon d'antimoine à 10 mg/L.

– Solution fille étalon d'antimoine à 0,1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions (3 à 5) couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 20 à 50 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 – 110 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) entre 900 °C (sans modificateur) et 1 200 °C (avec modificateur) pendant 15 secondes, puis atomiser à la température comprise entre 1 900 °C (sans modificateur) et 2 400 °C (avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 217,6 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 0,5 µg/L voire 0,2 pour la méthode avec conversion d'hydrures.

– Le degré d'oxydation est important, Sb (*V*) est réduit convenablement par l'addition d'iodure de potassium et d'acide ascorbique.

– Le palladium et le magnésium peuvent être utilisés comme modificateur de matrice à la place du nickel. La température d'atomisation est alors de 1 900 °C.

7.4.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure

La méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure a une bonne sensibilité. Utiliser le mode opératoire décrit pour l'arsenic (§ A-7.6).

7.4.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon d'antimoine à 100 mg/L :

tartrate double de potassium et d'antimoine déshydraté

$K(SbO)C_4H_4O_6$	266,9 mg
acide chlorhydrique dilué au demi	10 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions, couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 206,83 nm en ICP ou sur les isotopes 121 ou 123 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 20 µg/L en ICP et 0,005 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.5 Argent

7.5.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En milieu acide dilué, l'argent forme avec la dithizone du dithizonate d'argent susceptible d'être séparé par extraction. La spectrométrie s'effectue en présence d'un excès de dithizone.

☐ **Réactifs**

– Eau déionisée exempte d'argent, si possible ultra-pure, à utiliser pour la préparation de tous les réactifs.

– Acide sulfurique concentré.
– Acide sulfurique *N*.
– Acide nitrique *N*.
– Tétrachlorure de carbone exempt de toute trace de métal.
– Solution de thiocyanate d'ammonium :

thiocyanate d'ammonium		10 g
acide sulfurique		5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

Dissoudre d'abord le thiocyanate d'ammonium dans 100 mL d'eau contenant l'acide sulfurique. Ajuster à 500 mL. Conserver cette solution dans un récipient contenant 25 mL de solution de dithizone à 0,05 g/L.

– Solution d'urée :

urée		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Conserver cette solution dans un récipient contenant 25 mL de solution de dithizone à 0,05 g/L.

– Solution de sulfate d'hydroxylamine :

sulfate d'hydroxylamine		20 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Conserver cette solution dans un récipient contenant 25 mL de dithizone à 0,05 g/L.

– Solution de dithizone à 0,5 g/L.

Dissoudre à froid dans une ampoule à décanter 0,1 g de diphénylthiocarbazone dans 100 mL de tétrachlorure de carbone. Ajouter 100 mL d'eau ultra pure et 5 mL d'hydroxyde d'ammonium concentré. Bien agiter. Rejeter la couche de tétrachlorure de carbone et laver la phase alcaline avec 2 fois 5 mL de tétrachlorure de carbone. Ajouter 200 mL de tétrachlorure de carbone. Verser goutte à goutte de l'acide chlorhydrique dilué à 50 %, jusqu'à disparition de la coloration. Recueillir la couche de solvant. Ce traitement permet d'éliminer le cuivre.

– Solution de dithizone à 0,05 g/L :

solution de dithizone à 0,5 g/L		50 mL
tétrachlorure de carbone	*q.s.p.*	500 mL

– Solution de dithizone à 0,4 mg/L :

solution de dithizone à 0,05 g/L		2 mL
tétrachlorure de carbone	*q.s.p.*	250 mL

Les solutions de dithizone sont à conserver en flacon de verre teinté à l'abri de la lumière.

– Solution mère étalon d'argent à 100 mg/L :

nitrate d'argent anhydre		157,4 mg
acide sulfurique		14 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon d'argent à 1 mg/L.

Au moment du besoin, diluer 10 mL de solution à 100 mg/L dans un litre d'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décanter numérotées, introduire successivement :

Numéro des ampoules	I	II	III	IV	V
Solution d'argent à 1 mg/L (mL)	0,2	0,5	1	1,2	1,5
Acide nitrique *N* (mL)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Solution d'urée (mL)	1	1	1	1	1
Solution de sulfate d'hydroxylamine (mL)	1	1	1	1	1
Solution de dithizone à 0,4 mg/L (mL)	1	1	1	1	1
Correspondance en μg d'argent	0,2	0,5	1	1,2	1,5

Pratiquer l'extraction de l'argent par la dithizone en agitant 2 minutes. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 620 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Verser 100 mL d'eau à analyser dans une ampoule à décanter. Ajouter 11 mL d'acide sulfurique concentré, puis 5 mL de solution de dithizone à 0,05 g/L. Agiter pendant 1 minute. Introduire la phase organique et la mousse dans un tube à centrifuger. Recommencer 2 fois cette opération en utilisant chaque fois 5 mL de solution de dithizone à 0,05 g/L. Centrifuger. Rejeter les phases aqueuses. Ajouter 2 mL d'eau ultra pure. Centrifuger à nouveau. Mettre le solvant contenant le dithizonate d'argent dans une ampoule à décanter, et rejeter la phase aqueuse. Laver le tube à centrifuger avec 4 mL de solution de thiocyanate d'ammonium et transférer le liquide, après agitation, dans l'ampoule à décanter. Agiter 1 minute. Transférer la phase aqueuse dans une capsule. Répéter deux fois cette opération avec la solution de thiocyanate d'ammonium. Éliminer la phase organique. Ajouter à toutes les phases aqueuses réunies dans la capsule, 1,5 mL d'acide sulfurique concentré. Évaporer à siccité avec précautions en évitant les projections. Ajouter 0,6 mL d'acide nitrique *N* et chauffer pour dissoudre complètement le résidu. Ajouter 1 mL de solution d'urée et 1 mL de solution de sulfate d'hydroxylamine. Porter la solution à une température voisine de l'ébullition pendant 5 minutes, en ajoutant de l'eau ultra pure pour éviter la formation de grumeaux. Laisser refroidir. Verser la solution dans une fiole jaugée de 10 mL. Laver la capsule avec 2 fois 2 mL d'acide sulfurique concentré.

Pour le dosage, ajouter 1 mL de solution de dithizone à 0,4 mg/L. Agiter pendant 2 minutes. Si la coloration est verdâtre, la quantité d'argent présente est inférieure à 1,5 μg. Faire la lecture directement. Par contre, si la coloration est jaune clair, continuer d'ajouter, millilitre par millilitre, un volume de solution de dithizone à 0,4 mg/L nécessaire pour obtenir une coloration verdâtre. Bien noter le volume total utilisé (*D*). Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 620 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage et tenir compte de la valeur lue pour le témoin constitué par un échantillon d'eau déionisée traité dans les mêmes conditions.

Expression des résultats

Si D est le volume total de dithizone à 0,4 mg/L utilisé, la teneur en argent, exprimée en milligrammes par litre d'eau, est égale à :

$$\frac{C}{V} \times D$$

C = Masse d'argent lue sur la courbe d'étalonnage (µg).

V = Volume de l'échantillon (mL).

D = Volume de solution de dithizone utilisé (mL). (D = 1 s'il n'a pas été nécessaire de rajouter de la solution de dithizone).

Remarques

– La limite de détection est de 2 µg/L.

– D'une façon générale, étant donné les nombreuses interférences possibles, la méthode est d'application délicate. Il est nécessaire d'opérer rapidement en se méfiant de l'action de la lumière solaire et artificielle qui décompose la dithizone et le dithizonate d'argent.

– Le fer, le chlore et les agents oxydants réagissent avec la dithizone en donnant une coloration brun-jaune.

– Un soin tout particulier doit être apporté à la propreté des récipients utilisés.

– En raison des pertes possibles d'argent par adsorption, procéder au dosage le plus rapidement possible après le prélèvement. Si cela n'est pas possible, ajouter à l'échantillon quelques millilitres d'acide nitrique de pureté connue (*q.s.p. p* H $<$ 1,5).

7.5.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

Réactifs

– Solution mère étalon d'argent à 100 mg/L.

Se reporter au § A-7.5.4.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 4 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 328,1 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 1 µg/L.

– La complexation de l'argent avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinodithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 1 et 10 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (A.-7.26).

7.5.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matérial spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Acide nitrique (*d* = 1,38).

– Solution mère étalon d'argent à 1 g/L :

nitrate d'argent anhydre		1,574 g
acide nitrique		1,5 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon d'argent à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 20 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 140 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) entre 650 °C (sans modificateur) et 1 000 °C (avec modificateur) pendant 15 secondes, puis atomiser à la température comprise entre 1 600 °C (sans modificateur) et 2 200 °C (avec modificateur) pendant 2 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 328,1 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 0,5 µg/L.

– Cette technique est applicable aux eaux peu chargées. Dans tous les autres cas, vérifier l'erreur systématique due à la matrice par la méthode des ajouts dosés et des prises multiples.

– Dans le cas où la teneur est inférieure aux limites de sensibilité, procéder à une concentration selon l'une des méthodes décrites dans l'analyse de l'eau de mer.

7.5.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § 7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon d'argent à 100 mg/L :

nitrate d'argent ($AgNO_3$)	157,5 mg
acide nitrique concentré	10 mL
eau déionisée ou ulta-pure	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le nitrate d'argent dans 100 mL d'eau ultra-pure. Après dissolution, ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré. Ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 328,07 nm en ICP ou sur les isotopes 107 ou 109.

Remarque

La limite de détection est d'environ 1 µg/L.

Méthodes de référence

AFNOR FD T90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de huit éléments métalliques par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme. Méthode de dosage direct et après complexation et extraction.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.6 Arsenic (limite de qualité « Eau potable »)

La méthode au diéthyldithiocarbamate s'applique à des teneurs en arsenic supérieures à 1 μg dans la prise d'essai.

L'interférence due à l'antimoine, irrégulière pour la méthode sur papier, n'intervient dans la seconde méthode que pour des teneurs supérieures à 10 fois la teneur en arsenic.

Les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique (génération d'hydrure ou électrothermique) sont des méthodes sensibles, rapides, de mise en œuvre simple et bien adaptées aux dosages en série.

La méthode électrothermique, d'une sensibilité nettement supérieure aux autres méthodes, présente cependant l'inconvénient de difficultés rencontrées pour élaborer, dans les fours, des processus d'atomisation reproductibles et exempts d'interactions chimiques.

7.6.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Les composés non organiques de l'arsenic sont réduits à l'état d'hydrure par l'hydrogène naissant en milieu acide. L'hydrure donne avec le diéthyldithiocarbamate d'argent une coloration rouge susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ Matériel spécial

– Appareil comprenant :

- un générateur,
- un épurateur constitué par un tube contenant de la laine de verre imprégnée d'une solution d'acétate de plomb puis séchée,
- un barboteur.

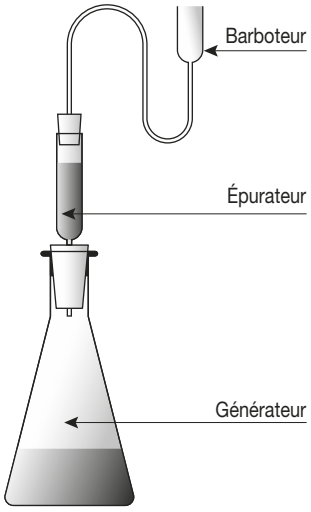


Schéma de l'appareil

☐ **Réactifs**

– Zinc à teneur en arsenic inférieure à 0,000 01 %.

– Zinc activé.

Introduire dans un bécher et dans l'ordre indiqué :

eau déionisée	100 mL
solution de sulfate de cuivre pur au 1/10	10 gouttes
zinc pur en grenaille ou en aiguilles (exempt d'arsenic)	80 g

Laisser en contact pendant 10 minutes en agitant 2 ou 3 fois. Décanter. Laver à plusieurs reprises avec de l'eau déionisée. Sécher.

– Acide chlorhydrique, (d = 1,19).

– Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 *N*.

– Solution d'iodure de potassium à 150 g/L.

À conserver en flacon brun.

– Solution alcoolique de phénolphtaléine à 1 g/L.

– Solution d'acétate de plomb à 100 g/L.

– Solution de diéthyldithiocarbamate d'argent :

diéthyldithiocarbamate d'argent	1 g
pyridine	200 mL

À conserver en flacon teinté.

– Solution de chlorure stanneux :

chlorure stanneux ($SnCl_2$, 2 H_2O)	40 g
acide chlorhydrique, (d = 1,19)	100 mL

Cette solution est stable.

– Solution mère étalon d'arsenic à 100 mg/L.

anhydride arsénieux As_2O_3	132 mg
solution d'hydroxyde de sodium à 200 g/L	5 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Dissoudre l'anhydride arsénieux dans la solution d'hydroxyde de sodium, ajouter environ 100 mL d'eau, neutraliser à *p*H 7 avec de l'acide sulfurique dilué, compléter à 1 litre avec de l'eau déionisée.

– Solution fille étalon d'arsenic à 1 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/100.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de flacons générateurs, préparer les dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 25 µg/L).

Poursuivre comme pour le mode opératoire. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 535 nm. Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Effectuer le dosage sur 35 mL. Introduire le prélèvement dans le générateur d'un appareil, ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique, 2 mL de solution d'iodure de potassium et 8 gouttes de solution de chlorure stanneux. Attendre 15 minutes pour que la réduction de l'arsenic soit totale. Munir le flacon de

l'épurateur à l'acétate de plomb et du tube barboteur contenant 5 mL de solution de diéthyldithiocarbamate. Ouvrir le générateur, introduire 3 g de grenaille de zinc et refermer immédiatement. Attendre 2 heures pour le dégagement complet d'hydrure d'arsenic. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 535 nm et tenir compte de la valeur lue pour un témoin d'eau déionisée. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

La courbe donne la masse d'arsenic contenu dans la prise d'essai.

Remarques

– La méthode permet de détecter 1 µg d'arsenic, soit environ 25 à 30 µg/L.

– Certains métaux (chrome, cobalt, cuivre, mercure, molybdène, nickel, argent) sont susceptibles de donner des interférences lors de la production d'hydrure d'arsenic. Cependant, pour des teneurs habituellement rencontrées dans les eaux, l'interférence n'est pas significative.

L'antimoine qui peut donner une absorption à 510 nm n'interfère que pour des teneurs 10 fois supérieures à celles de l'arsenic.

– La coloration s'affaiblit lentement, les lectures au spectromètre doivent donc être faites dès que le dégagement d'hydrure d'arsenic est terminé.

– Pour s'assurer que tout l'hydrure d'arsenic a bien atteint l'absorbeur, il est recommandé de chauffer doucement le générateur quelques minutes.

– Il existe dans le commerce des appareils à rodages normalisés.

7.6.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure

■ Principe

Le dosage de l'arsenic demande que tous les composés de l'arsenic soient à la valence III. La totalité de l'arsenic est donc d'abord oxydé à l'état V. L'arsenic (V) est alors réduit quantitativement en arsenic (III) par l'iodure de potassium. Puis l'arsenic (III) est réduit à l'état d'hydrure (H_3As) par le borohydrure de sodium. L'hydrure libéré dans le réacteur est entraîné dans un tube en silice chauffé.

□ Matériel spécial

– Générateur d'hydrure

– Spectromètre d'absorption atomique. Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Gaz vecteur : argon ou azote.

– Acide chlorhydrique 12 *N*.

– Solution d'iodure de potassium à 20 %.

– Pastilles de borohydrure de sodium.

– Solution mère étalon d'arsenic à 1 g/L.

Dissoudre 1,32 g d'anhydride arsénieux AS_2O_3 dans 10 mL d'une solution d'hydroxyde de

sodium à 40 %. Ajouter 100 mL d'eau déionisée. Acidifier avec de l'acide nitrique, compléter à 1 000 mL avec de l'eau déionisée ou ultra-pure.

– Solution fille étalon d'arsenic à 10 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/100.

– Solution fille étalon d'arsenic à 0,10 mg/L.

Diluer la solution précédente au 1/100.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution étalon, trois ou quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 40 µg/L).

■ Mode opératoire

Introduire dans le générateur d'hydrure 20 mL d'échantillon, 1 mL de solution d'iodure de potassium, 5 mL d'acide chlorhydrique et un barreau aimanté recouvert de téflon. Laisser stabiliser 40 s sous courant d'azote ou d'argon puis agiter 20 s en plaçant le flacon sur agitateur magnétique. Dans cette première phase, l'arsenic (V) est réduit en arsenic (III). Maintenir l'agitation et introduire une pastille de borohydrure de sodium. Mettre le générateur en communication avec le spectromètre d'absorption atomique. Entraîner l'hydrure d'arsenic au moyen du gaz vecteur à un débit de 1 à 3 L/min dans le tube en silice chauffé dans le brûleur air acétylène ou électriquement. Travailler en correction de bruit de fond, intégrer pendant 45 s. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 193,7 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'arsenic par litre.

Remarques

– La limite de détection est de 0,2 µg/L.

– Le palladium ou le magnésium peuvent être utilisés comme modificateur de matrice.

– Dans le cas où la présence de composés organiques de l'arsenic est suspectée dans une eau, une minéralisation préalable de l'échantillon est nécessaire pour doser l'arsenic total. Cette minéralisation peut être sulfonitrique, nitrosulfo-perchlorique, au persulfate ou à l'autoclave.

7.6.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (atomisation électrothermique) avec four graphite

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Solution de nitrate de nickel :

nitrate de nickel [$Ni(NO_3)_2$, 6 H_2O]		20 g
solution d'acide nitrique à 2 %	*q.s.p.*	1 L

– Solution mère étalon d'arsenic à 1 g/L.

Dissoudre 1,32 g d'anhydride arsénieux As_2O_3 dans 10 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 40 %. Ajouter 100 mL d'eau ultra-pure. Acidifier avec de l'acide nitrique, compléter à 1 000 mL avec de l'eau ultra-pure.

– Solution fille étalon d'arsenic à 10 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/100.

– Solution fille étalon arsenic à 0,10 mg/L.

Diluer la solution précédente au 1/100.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution étalon, trois ou quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 40 µg/L).

Injecter 10 µL de chacune des dilutions dans le four de graphite, poursuivre comme pour le mode opératoire. Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Mélanger 10 mL d'échantillon à doser avec 1 mL de solution de nitrates de nickel. Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 130 °C pendant 60 secondes, minéraliser (pyrolyse) à 850 °C pendant 40 secondes, puis atomiser à la température maximale de 2 500 °C pendant 3 secondes.

En absence de modificateur chimique (nitrate de nickel), les températures de pyrolyse et d'atomisation sont respectivement de 300 et 1 250 °C.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 328,1 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 1 µg/L.

– La technique utilisée pour l'antimoine peut être appliquée dans les mêmes conditions pour l'arsenic.

– Le nitrate de nickel est ajouté comme modificateur de matrice. Il peut être remplacé par du palladium ou du magnésium.

7.6.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon d'arsenic à 1 g/L :

trioxyde d'arsenic (As_2O_3)	1,320 g

hydroxyde de sodium	4 g
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Se reporter au § A-7.1.6.

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 193,7 nm en ICP et sur l'isotope 75 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 5 µg/L en ICP et 0,03 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN 26595 (mars 1993). Qualité de l'eau – Dosage de l'arsenic total – Méthode spectrométrique au diéthyldithiocarbamate d'argent (Indice de classement T90-026).

AFNOR NF EN ISO 11969 (septembre 1996). Qualité de l'eau – Dosage de l'arsenic – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (technique hydrure) (Indice de classement T90-135)

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.7 Baryum (limite de qualité « Eau potable »)

Le dosage du baryum dans l'eau par les méthodes classiques soulève de nombreuses difficultés, car ses réactions analytiques manquent de spécificité, étant pour la plupart communes au calcium, au strontium et au plomb.

Les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme ou avec atomisation électrothermique et la méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma permettent un dosage direct sur l'eau brute.

Dès leur prélèvement, acidifier les échantillons à *p*H < 2 avec de l'acide chlorhydrique pour la spectrométrie d'absorption avec flamme et l'acide nitrique pour la spectrométrie d'absorption électrothermique. Ne pas utiliser d'acide sulfurique.

7.7.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Acide chlorhydrique (*d* = 1,38).

– Solution tampon :

chlorure de potassium		95 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution mère étalon de baryum à 1 g/L :

chlorure de baryum ($BaCl_2$, 2 H_2O)		1,779 g
acide nitrique		5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon de baryum à 10 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, quatre ou cinq dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

À 100 mL d'échantillon acidifié à *p*H < 2, ajouter 2 mL de solution de chlorure de potassium. Nébuliser la solution dans une flamme acétylène/protoxyde d'azote, en intercalant de l'eau permutée entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 553,6 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

> **Remarque**
> La méthode s'applique à des eaux de surface, pour des concentrations comprises entre 0,2 et 2 mg/L.

7.7.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Acide nitrique (d = 1,38).

– Solution mère étalon de baryum à 1 g/L :

chlorure de baryum ($BaCl_2$, 2 H_2O)		1,779 g
acide nitrique		5 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, quatre ou cinq dilutions dans la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 50 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 °C pendant 30 secondes, minéraliser à 1 000 °C pendant 30 secondes, puis atomiser à la température de 2 700 °C pendant 6 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 553,6 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 2 µg/L.

– L'addition de césium permet d'améliorer la sensibilité de l'absorbance pour certains milieux complexes.

7.7.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de baryum à 100 mg/L :

chlorure de baryum déshydraté		151,6 mg
acide chlorhydrique dilué au demi		20 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le chlorure de baryum dans 10 mL d'eau additionnée de 10 mL d'acide chlorhydrique dilué au demi après dissolution. Ajouter 10 mL d'acide chlorhydrique, puis ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 455,40 nm ou 253,52 nm en ICP ou sur les isotopes 137 et 138 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 0,3 µg/L en ICP et 0,005 µg/L en ICP/MS.

7.7.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3

Méthodes de référence

AFNOR NF T90-118 (août 1985). Essais des eaux – Dosage du baryum par spectrométrie d'absorption atomique – Méthodes avec et sans flamme.

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires.

7.8 Béryllium

7.8.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Un réactif à l'aluminon forme une laque avec le béryllium. La couleur développée est mesurée à 515 nm.

■ Prélèvement

Acidifier les échantillons au moment du prélèvement à $pH < 2$ avec de l'acide nitrique pour éviter le dépôt du métal sur les parois du flacon.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.1.

□ Réactifs

– Solution de rouge de méthyl :

sel sodique du rouge de méthyl	5 mg
alcool éthylique à 95 °	6 mL

eau déionisée	*q.s.p.* 10 mL

Dissoudre le rouge de méthyl dans l'alcool puis ajuster le volume avec de l'eau.

– Solution d'EDTA :

acide éthylènediamine tétraacétique	2,5 g
solution alcoolique de rouge de méthyl	1 goutte
solution d'hydroxyde d'ammonium	*q.s.p.* neutraliser
eau déionisée	*q.s.p.* 100 mL

Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire l'EDTA et 30 mL d'eau, ajouter une goutte de solution de rouge de méthyl et de l'hydroxyde d'ammonium en quantité suffisante pour neutraliser. Ajuster le volume avec de l'eau déionisée.

– Solution tampon d'aluminon :

a)	acétate d'ammonium ($NH_4C_2H_3O_2$)	500 g
	acide acétique glacial	80 mL
	sel triammonique de l'acide aurintricarboxylique (aluminon)	1 g
	acide benzoïque ($C_7H_6O_2$)	3 g
	alcool méthylique	20 mL
	eau déionisée	*q.s.p.* 2 L
b)	gélatine	10 g
	eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dans un bécher de 2 L, introduire l'acétate d'ammonium et d'eau déionisée. Ajouter 80 mL d'acide acétique, agiter jusqu'à dissolution complète. Dissoudre à part l'aluminon dans 50 mL d'eau et l'ajouter à la solution précédente. Dissoudre l'acide benzoïque dans 20 mL d'alcool méthylique et l'ajouter également à la solution tampon en agitant. Transvaser la solution dans une fiole jaugée de 2 L, ajuster le volume.

Introduire la gélatine dans un bécher de 400 mL contenant 250 mL d'eau. Placer le bécher dans un bain d'eau bouillante et agiter de temps en temps jusqu'à dissolution complète de la gélatine. Verser la solution de gélatine chaude dans une fiole jaugée de 1 L contenant 500 mL d'eau déionisée. Après refroidissement, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau.

Mélanger la solution de gélatine et la solution tampon.

Conservée en flacon de verre inactinique, cette solution est stable au moins un mois.

– Solution mère étalon de béryllium à 100 mg/L :

sulfate de béryllium tétrahydraté ($BeSO_4$, 4 H_2O)	983,7 mg
eau déionisée	*q.s.p.* 500 mL

– Solution fille étalon de béryllium à 5 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/20 avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, six dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 20 µg/L).

■ Mode opératoire

Introduire 50 mL d'échantillon dans une fiole jaugée de 100 mL, ajouter 2 mL de solution d'EDTA, diluer avec de l'eau déionisée jusqu'à 75 mL environ. Ajouter 15 mL de solution tampon puis ajuster le volume à 100 mL avec de l'eau. Mélanger, laisser en attente 20 min à l'obscurité. Effectuer la lecture à 515 nm, se reporter à la courbe d'étalonnage.

Remarques

– L'addition d'EDTA évite l'interférence due à de faibles teneurs en aluminium, cobalt, cuivre, fer, manganèse, nickel, titane, zinc et zirconium.

– Dans les conditions décrites, 10 mg de cuivre dans la prise d'essai peuvent être tolérés. En présence de quantités plus importantes, augmenter la quantité d'EDTA. Le cuivre complexé absorbe faiblement à 515 nm ; cette interférence est éliminée en ajoutant une quantité équivalente de cuivre à l'étalon.

– Le minimum détectable est de 5 µg/L, la méthode est applicable jusqu'à 200 µg dans la prise d'échantillon.

– Si le béryllium soluble est demandé, filtrer l'échantillon sur membrane 0,45 µm, acidifier ensuite le filtrat. Le béryllium total est obtenu après minéralisation de l'échantillon.

7.8.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de béryllium à 100 mg/L.

Se reporter au § A-7.8.4.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 234,9 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– La complexation du béryllium avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinodithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 0 et 30 microgrammes par litre. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (§ A-7.26).

7.8.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Solution d'acide sulfurique à 6 %.

– Solution de béryllium à 1 g/L.

béryllium	0,1 g
acide sulfurique 9 *N*	5 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.* 100 mL

Attaquer le béryllium par l'acide sulfurique 9 *N* jusqu'à dissolution complète, ajuster le volume avec de l'eau déionisée ou ultra-pure.

– Solution étalon à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution étalon, trois ou quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 40 µg/L).

■ Mode opératoire

Injecter dans le four 20 µL d'échantillon. Sécher à 100 °C pendant 60 secondes, minéraliser (pyrolyse) à 1 200 °C pendant 30 secondes puis atomiser à 1 600 °C pendant 6 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 234,9 nm ; se reporter à la courbe d'étalonnage.

Remarques

– La limite de détection est de 0,1 µg/L.

– L'addition d'acide sulfurique remédie aux effets de matrice ; le magnésium peut également être utilisé.

7.8.4 Méthode par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de béryllium à 100 mg/L :

sulfate de béryllium ($BeSO_4$, 4 H_2O)	1,966 g
acide nitrique concentré	10 mL
eau ulta-pure	*q.s.p.* 1 L

Ne pas déshydrater le sulfate béryllium avant la pesée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 313,04 nm.

Remarque
La limite de détection est d'environ 0,3 µg/L.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.9 Bismuth

7.9.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Dissoudre 0,1 g de métal bismuth dans un minimum d'acide nitrique. Compléter à 1 000 mL avec une solution à 2 % (v/v) d'acide nitrique dans l'eau déionisée.

– 1 mL = 100 µg Bi.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L)

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 223,1 nm.

Remarque
La limite de détection est de 10 µg/L.

7.9.2 Autres méthodes

Le bismuth est généralement analysé par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme (air-acétylène) ou en four graphite. La spectrométrie

d'émission avec plasma à couplage inductif donne également de bons résultats.

Remarque
La limite de détection est d'environ 10 µg/L en ICP et 0,005 µg/L en ICP/MS.

7.10 Borate et bore (limite de qualité « Eau potable »)

Le bore dans les eaux douces naturelles n'atteint des concentrations excessives que sous des influences naturelles dans certaines régions. Toutefois, l'utilisation généralisée des borates dans les détergents fait évoluer cette situation. Les formes de bore dans l'eau sont principalement représentées par les borates dont la répartition des espèces dépend de la valeur du pH.

$$H_3BO_3 \leftrightarrow H_2BO_3^- + H^+ \quad pK_a\ (20\ °C) = 9{,}14$$

$$H_2BO_3^- \leftrightarrow HBO_3^{2-} + H^+ \quad pK_a\ (20\ °C) = 12{,}74$$

$$HBO_3^{2-} \leftrightarrow BO_3^{3-} + H^+ \quad pK_a\ (20\ °C) = 13{,}80$$

Aux pH des eaux naturelles (entre 7 et 8) les borates sont sous formes H_3BO_3 principalement et $H_2BO_3^-$ minoritairement.

Le choix de la méthode est fonction de la teneur de l'eau en bore et du matériel disponible. La méthode potentiométrique est à réserver pour des concentrations supérieures à 1 mg/L. Pour des concentrations inférieures, sont applicables les méthodes par spectrométrie d'absorption moléculaire et la méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma.

Les échantillons d'eau sont à conserver dans des flacons de polyéthylène.

7.10.1 Méthode potentiométrique directe

■ Principe

L'acide borique donne, avec un polyalcool un complexe acide suffisamment fort pour permettre un dosage potentiométrique.

□ Réactifs

Les solutions préparées doivent être conservées dans des flacons en polyéthyléne (ou polycarbonate).

– Solution de bleu de bromothymol :

bleu de bromothymol sodique	1 g
eau déionisée	100 mL

– Acide sulfurique *N*.

– Solution tampon de *p*H 7.

Dissoudre 25,4 g de dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH_2PO_4) et 34,1 g d'hydrogénophosphate de sodium anhydre (Na_2HPO_4) dans 800 mL d'eau déionisée.

– Solution d'hydroxyde de sodium saturée, exempte de carbonate :

hydroxyde de sodium	50 g
eau fraîchement déionisée	50 mL

N'utiliser qu'après 48 heures et préserver de l'anhydride carbonique.

– Solution d'hydroxyde de sodium 0,5 *N* :

solution surnageante saturée	2,9 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 100 mL

– Solution d'hydroxyde de sodium 0,0231 *N* à préparer extemporanément. Prélever la quantité de solution surnageante saturée correspondant à environ 1 g d'hydroxyde de sodium et diluer dans 1 litre d'eau permutée exempte d'anhydride carbonique.

– Mannitol exempt de bore. Le titrage de 5 g de mannitol ne doit pas nécessiter plus de 0,1 mL de solution d'hydroxyde de sodium 0,0231 *N*.

– Solution mère étalon de bore à 100 mg/L :

acide borique recristallisé anhydre	0,5716 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

– Solution fille étalon de bore à 1 mg/L :

solution mère	10 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Mode opératoire

Vérification du titre de la solution d'hydroxyde de sodium 0,0231 *N*

Effectuer cette vérification en utilisant 5 mL de solution fille étalon de bore dilués dans 250 mL d'eau permutée et en procédant selon le mode opératoire ci-dessous. Diluer la solution de façon que 1 mL = 0,250 mg de bore.

Dosage proprement dit

Dans un bécher de 400 mL, verser 250 mL d'eau ne contenant pas plus de 1 mg de bore ; dans le cas contraire, procéder à une dilution. Introduire quelques gouttes de bleu de bromothymol. Acidifier par de l'acide sulfurique *N* et ajouter en plus 1 mL. Porter à l'ébullition en agitant pour éliminer l'anhydride carbonique. Laisser refroidir. Étalonner le *p*H mètre à l'aide de la solution tampon (*p*H = 7). Laver les électrodes à l'eau déionisée et les plonger dans le bécher. Ajouter, toujours en agitant, la quantité nécessaire de solution d'hydroxyde de sodium 0,5 *N* pour amener le *p*H aux environs de 5, puis ajuster le *p*H à 7 avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,0231 *N*. Introduire 5 g de mannitol. En présence de bore, l'indicateur vire et le *p*H diminue. Ajouter la quantité nécessaire d'hydroxyde de sodium 0,0231 *N* pour ramener le *p*H à 7. Noter le volume utilisé (V_1). Refaire les mêmes opérations sur un échantillon d'eau déionisée. Noter le volume (V_2) nécessaire.

Expression des résultats

La quantité de bore en mg/L est égale à

$$\frac{(V_1 - V_2) \times N \times 10{,}82 \times 1\,000}{v}$$

N = Normalité de la solution titrante.

v = Volume de l'échantillon (mL).

Remarques

– La limite de détection est de 1 mg/L.

– Si la concentration en phosphates dans l'échantillon dépasse 10 mg/L, il est nécessaire de procéder à une séparation. Pour cela, précipiter par le nitrate de plomb et éliminer le plomb en excès à l'aide d'hydrogénocarbonate de sodium.

– Les carbonates et l'ammoniaque peuvent gêner la mesure.

– Éviter de manipuler de l'acide chlorhydrique ou de l'ammoniaque durant le dosage.

7.10.2 Méthode au carmin par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En milieu acide, le bore forme avec l'acide carminique un complexe permettant une mesure par spectrométrie.

□ **Réactifs**

– Acide sulfurique (*d* = 1,83).

– Solution d'acide carminique :

acide carminique		50 mg
acide sulfurique (*d* = 1,83)	*q.s.p.*	100 mL

– Hydroxyde de sodium *N* (voir 2 e remarque).

– Solution étalon de bore à 100 mg/L :

acide borique recristallisé anhydre		571,9 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Stockée en flacon de polyéthylène, cette solution se conserve un mois.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de préférence en polyéthylène, effectuer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon de bore à 100 mg/L	0	1	2	3	4	5
Eau désionisée (mL)	100	99	98	97	96	95
Correspondance en milligrammes de bore par litre	0	1	2	3	4	5

Dans six fioles jaugées de 25 mL à bouchon rodé, refroidies dans un bain glacé introduire 2 mL d'eau déionisée ou 2 mL des dilutions ci-dessus puis faire écouler lentement dans chacune d'elles 10 mL d'acide sulfurique (*d* = 1,83), en refroidissant. Agiter jusqu'à la fin du dégagement gazeux et revenir à la température ambiante. Ajouter 10 mL d'acide carminique. Agiter. Attendre 45 minutes. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 585 nm. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 2 mL d'eau à analyser dans une fiole jaugée de 25 mL et procéder de la même manière que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 2 mL, la courbe donne directement la teneur en bore exprimée en mg/L.

Remarques

– La limite de détection est de 2 µg dans la prise d'essai.

– L'échantillon doit contenir moins de 5 µg/mL de bore. Pratiquer si nécessaire une dilution ou une concentration à chaud en milieu alcalin de façon à obtenir une solution contenant 1 à 5 µg de bore par millilitre.

– La précision est de ± 0,2 µg pour une quantité de bore de 5 µg.

– Les oxydants gênent le dosage.

7.10.3 Méthode à l'azométhine H par spectrométrie d'absorption moléculaire

Principe

En milieu faiblement acide, le bore donne avec l'azométhine H (condensation de l'acide 8 amino, 1 naphtol, 3-6 disulfonique et de l'aldéhyde salicylique) une coloration jaune se prêtant à un dosage spectrométrique.

Réactifs

Conserver tous les réactifs en flacons de polyéthylène.

– Solution d'azométhine ($C_{17}H_2NNaO_8S_2$) à 10 g/L :

azométhine H		1 g
acide ascorbique		2 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Préparer cette solution chaque jour.

– Solution tampon :

acétate d'ammonium	250 g
eau déionisée	500 mL
acide acétique 99 %	125 mL
sel disodique à l'acide éthylène diamine tétraacétique (Na_2-EDTA)	7 g

Dissoudre l'acétate d'ammonium dans l'eau.

Ajouter l'acide acétique puis l'EDTA.

– Solution étalon de bore à 100 mg/L :

acide borique anhydre		571,9 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Mettre l'acide borique dans un dessiccateur pendant 24 h avant de le peser.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées en polyéthylène, effectuer les dilutions suivantes :

Numéro des flacons	T	I	II	III	IV
Solution étalon de bore à 100 mg/L	0	1	2	3	4
Eau déionisée (mL)	100	99	98	97	96
Correspondance en milligrammes de bore par litre	0	1	2	3	4

Poursuivre comme pour le mode opératoire. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm.

Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Introduire successivement dans un flacon en matière plastique en agitant après chaque addition de réactifs :

– 10 mL d'eau à analyser,

– 2,5 mL de solution d'azométhine,

– 2,5 mL de solution tampon.

Agiter et attendre 2 heures en plaçant le flacon à l'obscurité, à une température comprise entre 20 et 25 °C. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe donne directement la teneur en bore exprimée en mg/L.

Remarques

– La méthode est applicable pour des concentrations en bore de 0,04 à 4 mg/L.

– La limite de détection est de 0,025 mg/L.

– Dans le cas d'eaux chargées en matières organiques, la minéralisation de l'échantillon peut être nécessaire avant d'effectuer le dosage. Dans une capsule de platine, ajouter à 50 mL d'eau à analyser, 10 mg de magnésie. Évaporer à sec au bain-marie puis minéraliser à 450 °C pendant 3 à 4 h.

Reprendre le résidu par 25 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 3,55 g/L. Procéder ensuite au dosage sur 10 mL de la solution ainsi obtenue. Tenir compte du facteur de dilution de l'échantillon dans l'expression des résultats.

– Une autre solution dans le cas des eaux chargées en matières organiques (à utiliser avec précaution) est de mesurer l'absorbance propre de l'échantillon en opérant selon le mode opératoire ci-dessus mais en remplaçant les 25 mL de solution d'azométhine par 25 mL d'eau déionisée.

7.10.4 Méthode par flux continu

Se reporter au § A-7.1.2.

Principe

Voir méthode à l'azométhine (A-7.10.3).

Réactifs

Mêmes réactifs que pour la méthode à l'azométhine.

– Solution d'acide chlorhydrique *N*.

Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution étalon, préparer une série de dilutions de 0 à 4 mg/L de bore dans l'acide chlorhydrique *N*. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation. La cadence de détermination est de 40 échantillons par heure à raison d'un temps de rinçage de 45 secondes pour un temps de prélèvement de 45 secondes. Faire fonctionner l'appareil avec les réactifs et de l'eau déionisée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures au spectromètre à 410 nm.

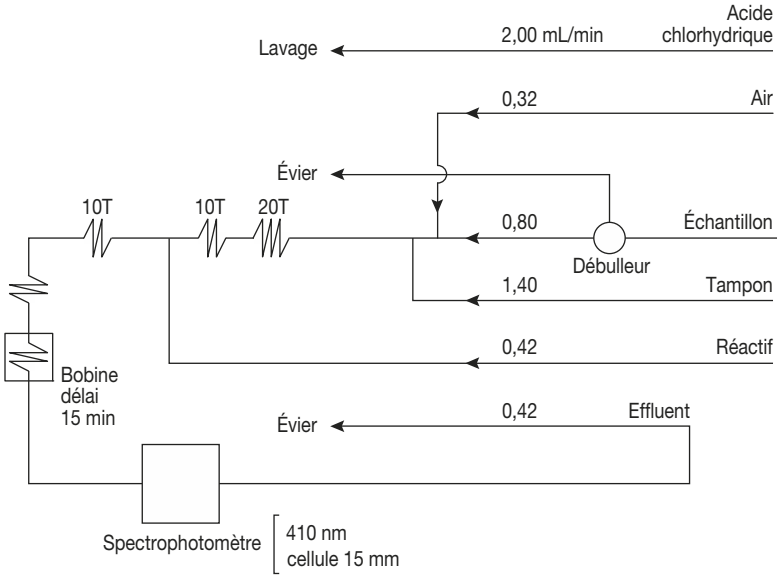


Schéma d'utilisation

Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en bore exprimée en milligrammes par litre.

> **Remarques**
>
> – Surveiller que l'aiguille du préleveur ne soit pas attaquée par l'acide chlorhydrique, le dégagement d'hydrogène perturbe le dosage. Il est conseillé d'utiliser une aiguille en platine.
>
> – La stabilisation de la ligne de base est longue à obtenir.

7.10.5 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Pour le dosage du bore dissous, filtrer l'échantillon non acidifié ; pour celui du bore total, une minéralisation de l'échantillon non acidifié est nécessaire.

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ Réactifs

– Solution d'acide nitrique concentré, dilué au demi.
– Solution d'acide chlorhydrique concentré, dilué au demi.
– Solution de rinçage :

acide nitrique dilué au demi		20 mL
acide chlorhydrique dilué au demi		100 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	2 L

– Solution mère étalon de bore à 100 mg/L :

acide borique anhydre (H_3BO_3)		571,9 mg
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Ne pas sécher H_3BO_3 avant la pesée, mais conserver le flacon dans un dessiccateur.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution mère étalon, quatre dilutions de 0 à 1 mg/L dans des fioles jaugées de 100 mL contenant chacune 2 mL de solution d'acide nitrique dilué au demi et 10 mL d'acide chlorhydrique au demi. Ajuster le volume à 100 mL avec de l'eau ultra-pure. Poursuivre comme pour le mode opératoire.

■ Mode opératoire

Introduire dans une fiole jaugée de 100 mL un volume d'eau non acidifié au préalable et filtré. Ajouter 2 mL d'acide nitrique au demi et 10 mL d'acide chlorhydrique au demi, ajuster le volume à 100 mL, mélanger soigneusement. Injecter chaque solution dans le four. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 249,77 nm en ICP ou sur les isotopes 10 à 11 en ICP/MS. Rincer l'appareil entre chaque mesure avec la solution de rinçage. Se reporter à la courbe d'étalonnage. Tenir compte de la dilution.

Remarques

– La limite de détection est de 2 µg/L en ICP et 1 µg/L en ICP/MS.

– Pour le dosage du bore total, utiliser la méthode suivante pour la minéralisation :

Introduire dans un bécher de 150 mL, une prise d'essai de l'échantillon homogénéisé. Ajouter 3 mL d'acide nitrique, concentré. Placer le bécher sur une plaque chauffante. Évaporer l'échantillon avec précaution, en évitant l'ébullition et l'évaporation à sec. Après refroidissement, ajouter 5 mL d'acide nitrique concentré, couvrir d'un verre de montre et remettre le bécher sur la plaque chauffante

en maintenant un doux reflux. Si la minéralisation est incomplète, ajouter un supplément d'acide. Chauffer jusqu'à obtention d'un liquide clair, ne changeant plus d'aspect. Concentrer jusqu'à un volume inférieur à 5 mL, laisser refroidir puis ajouter 10 mL d'acide chlorhydrique au demi et 15 mL d'eau ultra-pure ; chauffer quelques minutes supplémentaires pour dissoudre le précipité.

Après refroidissement, rincer les parois du bécher avec de l'eau ultra-pure, transvaser dans une fiole jaugée de 100 mL. Ajuster le volume. Filtrer, centrifuger ou laisser décanter une nuit pour éliminer l'insoluble. Introduire la solution limpide directement dans l'appareil et poursuivre comme pour le mode opératoire.

– Pour le témoin, utiliser une solution des mêmes acides et en mêmes quantités que ceux ayant servi à la préparation de l'échantillon.

Méthodes de référence

AFNOR T90-041 (août 1985). Essais des eaux – Dosage du bore par spectrométrie d'absorption moléculaire – Méthode à l'azométhine H.

AFNOR NF EN ISO 11885 (janvier 2007). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement : T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau - Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement : T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau - Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement : T90-164).

7.11 Bromate (limite de qualité « Eau potable »)

Depuis la fin des années 90, les bromates sont dosés dans les eaux destinées à la consommation humaine (eau potable) et dans les ressources en eau destinées à la production d'eau potable. La teneur de 10 μg/L tolérée dans les eaux potables, depuis décembre 2008, pourrait se durcir dans les années à venir.

Dans la plupart des cas, la présence des bromates dans l'eau potable est due aux étapes de désinfection, notamment l'ozonation (l'ion bromure est relativement facilement oxydé en ion hypobromite par l'ozone, puis, dans certaines conditions, en ion bromate) mais aussi la désinfection à l'hypochlorite de sodium (certaines solutions d'hypochlorite de sodium ou eau de Javel peuvent contenir des teneurs élevées en bromates).

La seule méthode disponible pour doser l'ion bromate à quelques μg/L est la méthode par chromatographie ionique avec de nombreuses adaptations. D'autres méthodes ont été développées dans la littérature mais aucune n'est utilisée en routine avec une aussi bonne sensiblité que la méthode par chromatographie ionique

7.11.1 Méthode par chromatographie ionique adaptée au dosage des bromates

Une des adaptations principales par rapport à la méthode globale de dosage simultané des anions par chromatographie ionique consiste en une préparation spéciale de l'échantillon. Il est toujours indispensable d'éliminer les chlorures, parfois les sulfates et certains métaux, et de pré-concentrer l'échantillon. Avec ces prétraitements optimisés, l'applicabilité de la méthode peut atteindre 0,5 µg/L.

■ Principe

Le principe est identique à celui de la méthode de dosage simultanée des anions (cf. § A-7.1.3). Les anions présents dans l'échantillon ou encore présents à l'état de traces après pré-traitement sont pré-concentrés (sur une colonne chromatographique spéciale) puis séparés à l'aide d'une phase stationnaire échangeuse d'anions et d'une phase mobile aqueuse. Les ions séparés sont détectés en sortie de colonne par un conductimètre associé à un réacteur post-colonne de suppression chimique de certains ions pour améliorer la sensibilité.

□ Appareillage

Se reporter au § A-7.1.3.

Ensemble instrumental pour chromatographie ionique adapté pour l'analyse de traces d'anions, comprenant les éléments suivants :

- réservoirs d'éluants, si possible avec système de dégazage,
- système de pompage à gradient,
- système d'injection d'échantillon (injecteur automatique préférable),
- colonnes de pré-concentration et de séparation,
- système de détecteur conductimétrique équipé d'un réacteur post-colonne anionique,
- détecteur UV,
- dispositif d'acquisition des données,
- cartouches échangeuse de cations et cartouches à phases non polaires :
  - échangeur de cations sous forme Argent,
  - échangeur de cations sous forme Baryum,
  - échangeur de cations sous forme Hydrogène,
  - autres cartouches conseillées par le fournisseur (par exemple à phases non polaires pour la préparation de l'échantillon).

□ Réactifs

Utiliser uniquement de l'eau de qualité ultra-pure et des réactifs de qualité analytique reconnue.

- Solution concentrée d'hydrogénocarbonate de sodium :

Hydrogénocarbonate de sodium, $NaHCO_3$		58,8 g
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

- Éluant I :

Solution concentrée de $NaHCO_3$		5 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	5 L

- Éluant II :

Téraborate disodique décahydraté, $Na_2B_4O_7$, 10 H_2O	76,3 g

Eau ultra-pure	*q.s.p.*	5 L

– Éluant III :

Carbonate de sodium Na_2CO_3		10,6 g
Hydrogénocarbonate de sodium, $NaHCO_3$		8,4 g
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Éluant IV :

Solution concentrée de $NaHCO_3$		50 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	500 mL

– Éluant V :

Téraborate disodique décahydraté, $Na_2B_4O_7$, 10 H_2O		477 g
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	5 L

– Solution mère étalon de 1 g/L de bromates :

Bromate de potassium $KBrO_3$		1,306 g
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Sécher environ 1,5 g de bromate de potassium pendant au moins 1 heure à 105 °C et conserver dans un dessicateur. Conserver la solution dans des flacons de polyéthylène au froid (2 à 6 °C)

– Solutions filles étalon de bromates :

Solution fille étalon I	100 mg/L
Solution fille étalon II	1 mg/L

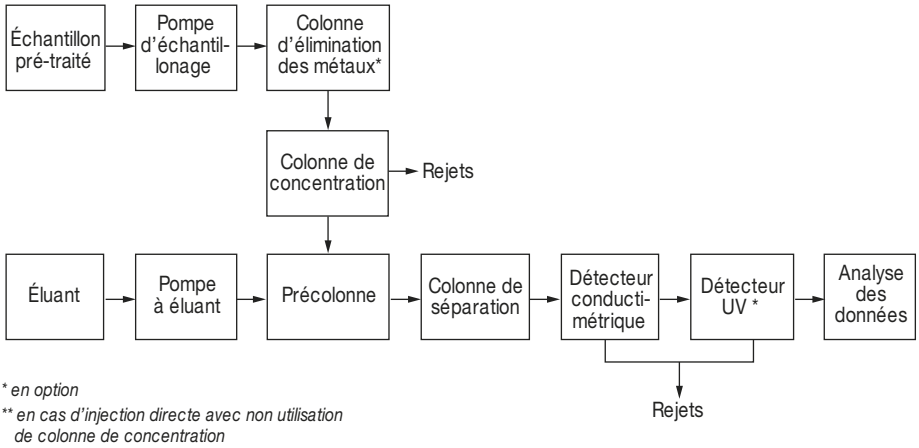
Faire les dilutions nécessaires avec de l'eau ulra-pure pour obtenir la solution fille étalon I (1 mL de solution mère complété à 100 mL) et étalon II (1 mL de solution fille I complété à 100 mL) et conserver ces solutions dans des flacons en polyéthylène au froid (2 à 6 °C).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer les solutions d'étalonnage pour cinq à dix concentrations différentes par dilution avec de l'eau ultra-pure (par exemple, pour des concentrations de bromates comprises entre 0,5 μg/L et 5,0 μg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter à la notice d'utilisation de l'appareil. À titre d'exemple, il est reporté ci-dessous la représentation schématique proposée par la norme AFNOR.



** en option*
*** en cas d'injection directe avec non utilisation de colonne de concentration*

Expression des résultats

Identifier l'ion bromate sur le chromatogramme en fonction de son temps de réaction, voire en réalisant des ajouts dosés dans l'échantillon à analyser. La concentration en bromates est obtenue par l'analyse des données, en surface de pic.

Remarques

– Éviter toute formation de bromate après le prélèvement en éliminant immédiatement toute présence d'ozone, par exemple en ajoutant 50 mg d'éthylène diamine pour 1 litre d'échantillon.

– Conserver l'échantillon dans un flacon en polyéthylène maintenu à une température comprise entre 2 °C et 6 °C.

– Si nécessaire éliminer les chlorures, carbonates et sulfates au moyen des cartouches échangeuses d'ions, en se reportant à la notice d'utilisation de l'appareil.

– Si nécessaire, confirmer les concentrations en bromates par détection UV.

7.11.2 Autres méthodes

Parmi les autres méthodes publiées dans la littérature, fin des années 90, aucune n'a « détrôné » la méthode par chromatographie ionique. Certaines de ces méthodes ne sont pas assez sensibles pour le dosage dans les eaux naturelles (et potables), comme la polarographie ou l'électrophorèse capillaire. D'autres sont assez difficiles à mettre en œuvre, comme le dosage par ICP/MS après séparation et pré-concentration sur micro-colonne d'alumine.

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 15061 (septembre 2001) – Qualité de l'eau – Dosage du bromate dissous – Méthode par chromatographie des ions en phase liquide.

7.12 Bromure

Les eaux douces superficielles contiennent peu de bromures, de quelques ppb à une (ou quelques) centaine(s) de ppb. Sauf cas particulier, notamment la présence d'une pollution, le rapport chlorures/bromures est naturellement de l'ordre de 400 (par exemple : 25 µg/L de bromures pour 10 mg/L de chlorures).

Pour le dosage des bromures l'analyste dispose d'une méthode spectrométrique adaptée à certaines eaux de boisson et eaux souterraines, et d'une méthode par chromatographie ionique permettant d'atteindre des concentrations très faibles, jusqu'à 10 µg/L. La méthode potentiométrique est applicable aux eaux ou solutions contenant de 0,5 à 1 000 mg/L de bromures.

7.12.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

Principe

Le brome libéré des bromures par la chloramine T, transforme à *p*H 4,6 la phénolsulfonephtaléine en tétrabromophénolsulfonephtaléine de couleur pourpre susceptible d'un dosage spectrométrique.

Réactifs

– Solution d'hydroxyde de sodium à 50 %.

– Lait de chaux :

chaux	112 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Solution tampon : *p*H 4,65

acétate de sodium, 3 H_2O	68 g
acide acétique	30 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Le *p*H doit être compris entre 4,6 et 4,7.

– Solution de phénolsulfonephtaléine :

phénolsulfonephtaléine	24 mg
hydroxyde de sodium 0,1 *N*	2,4 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 100 mL

– Solution de chloramine T :

chloramine T	2 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Préparer cette solution 48 heures à l'avance et l'utiliser dans un délai ne dépassant pas 15 jours en la conservant au réfrigérateur et à l'abri de la lumière.

– Solution de thiosulfate de sodium :

thiosulfate de sodium	25 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Solution mère étalon de brome à 0,2 g/L :

bromure de potassium	297,8 mg
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Solution fille étalon de brome à 2 mg/L :

solution mère	10 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire dans une capsule de silice 50 mL de solution fille étalon additionnés de 0,5 mL de solution d'hydroxyde de sodium à 50 % et de 1 mL de lait de chaux de façon à obtenir un *p*H $>$ 10. Évaporer au bain-marie. Reprendre le résidu par 5 mL d'eau bouillante puis amener le *p*H entre 4 et 5 au moyen d'acide sulfurique au 1/10 puis au 1/100. Ajouter une quantité suffisante d'eau pour obtenir 10 mL. À l'aide d'un petit agitateur, broyer le sulfate de calcium formé et agiter. Transvaser dans un tube à centrifuger, centrifuger 10 minutes. Prélever le liquide limpide et introduire successivement dans une série de tubes à essais.

Numéro des tubes	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon traitée (mL)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Eau déionisée (mL)	5	4,5	4	3,5	3	2,5
Correspondance en µg de brome	0	5	10	15	20	25
Solution tampon (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Solution de phénolsulfonephtaléine (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Solution de chloramine T (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	Attendre 1 minute exactement et ajouter					
Solution de thiosulfate de sodium (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 584 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Évaporer 50 mL d'eau additionnée de 0,5 mL de solution d'hydroxyde de sodium à 50 % et de 1 mL de lait de chaux puis effectuer le dosage dans les mêmes conditions que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage sur 5 mL de solution concentrée. Préparer de la même façon un témoin avec 5 mL d'eau déionisée. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 584 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La courbe donne la masse de brome contenue dans la prise d'essai.

Remarques

– L'excès de phénolsulfonephtaléine doit être minimal pour éviter la formation de composés dibromés de couleurs différentes, parallèlement à celle des composés tétrabromés.

– En présence de quantités importantes de brome, effectuer le dosage sur une dilution de la solution concentrée.

– Un test rapide permet de vérifier si la teneur en brome est à l'intérieur des limites de la gamme. Placer dans un tube à essais :

1 mL de solution concentrée.

1 goutte de solution tampon.

1 goutte de solution de rouge de phénol.

1 goutte de solution de chloramine T.

Après 1 minute exactement, ajouter 1 goutte de solution de thiosulfate de sodium. En présence d'une coloration jaune, jaune-brun ou jaune-vert, la teneur en brome est convenable. Avec une coloration bleue ou violette, il est nécessaire de diluer la solution.

– La limite de détection est de 20 µg/L avec une reproductibilité de l'ordre de 10 µg/L.

7.12.2 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au dosage simultané des anions par chromatographie ionique (§ A-7.3.1).

7.12.3 Méthode potentiométrique

■ Principe

Les ions bromure sont mesurés par potentiométrie en utilisant une électrode spécifique en liaison avec une électrode à simple jonction, une électrode de référence. Les potentiels sont mesurés avec un *p*H-mètre ayant une échelle en millivolts étendue susceptible d'être lue au voisinage de 0,1 mV ou un potentiomètre.

□ Matériel spécial

– Appareil de mesure : potentiomètre ou *p*H-mètre avec échelle en millivolts.
– Électrode spécifique du brome.
– Électrode de référence.
– Agitateur électromagnétique avec des barreaux recouverts de téflon.

□ Réactifs

– Correcteur de force ionique :

nitrate de sodium		42,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de sulfate de nickel :

sulfate de nickel ($NiSO_4$, 6 H_2O)		26,3 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution mère étalon de brome à 1 g/L :

bromure de sodium		1,288 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution mère, préparer des dilutions au 1/10, au 1/100 et au 1/1 000 correspondant à des concentrations en bromure de 100 mg/L, 10 mg/L et 1 mg/L. Poursuivre comme pour le mode opératoire. Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Introduire 100 mL d'échantillon dans un bécher de 150 mL, ajouter 2 mL de correcteur de force ionique. Placer le bécher sur un agitateur électromagnétique, agiter doucement ; immerger les électrodes et attendre 2 min la stabilisation du potentiel. Effectuer la lecture. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

La courbe donne directement la teneur en bromure exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– Les solutions fortement réductrices ou contenant des ions formant des sels insolubles d'argent qui recouvrent la membrane de l'électrode perturbent le dosage. Ceci peut être éliminé par un nettoyage de la surface de la membrane.

– Les ions sulfure et iodure empoisonnent la membrane. Il est possible d'y remédier en ajoutant à 100 mL d'échantillon 0,1 mL de solution de sulfate de nickel.

Méthode de référence

NF EN ISO 10304-1 (juillet 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthodes applicables pour les eaux faiblement contaminées (Indice de classement T90-042).

7.13 Cadmium (limite de qualité « Eau potable »)

La méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire permet des dosages sans disposer de matériel très spécialisé mais nécessite de nombreuses manipulations ; sa limite de détection est de 20 µg/L. La méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique est la méthode de choix en raison de sa relative facilité de mise en œuvre et de sa sensibilité (0,05 µg/L). La limite de détection de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme est de 2 µg/L, celle de la méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma est de 0,3 µg/L ou 0,05 µg/L en ICP/MS.

7.13.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

Le cadmium réagit sous certaines conditions avec la dithizone en donnant une coloration rouge extractible par le chloroforme et susceptible d'un dosage spectrométrique.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.1.

Toute la verrerie doit être nettoyée à l'acide chlorhydrique dilué au 1/2 et rincée à l'eau déionisée.

☐ **Réactifs**

– Solution d'hydroxyde de sodium à 20 %.

Conserver cette solution en flacon de polyéthylène.

– Solution de tartrate double de sodium et de potassium :

tartrate de sodium et de potassium 3 H_2O		250 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de bleu de thymol à 0,4 %.

– Solutions d'hydroxyde de sodium et de cyanure de potassium :

1) hydroxyde de sodium		400 g
cyanure de potassium		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

2) hydroxyde de sodium		400 g
cyanure de potassium		0,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Ces solutions doivent être conservées en flacon en polyéthylène, elles sont stables 1 à 2 mois.

– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 20 %.
– Chloroforme pur.
– Solution chloroformique de dithizone à 100 mg/L :

diphénylthiocarbazone		100 mg
chloroforme pur	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver cette solution au réfrigérateur à l'abri de la lumière.

– Solution chloroformique de dithizone à 10 mg/L.

Diluer au 1/10 la solution précédente avec du chloroforme.

– Solution d'acide tartrique à 20 g/L :

acide tartrique		20 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver cette solution au réfrigérateur. Elle doit être froide au moment de l'emploi.

– Solution mère étalon de cadmium à 100 mg/L :

cadmium pur	100 mg
eau déionisée	20 mL
acide chlorhydrique concentré	5 mL

Chauffer jusqu'à dissolution du métal puis ajuster la solution à 1 000 mL avec de l'eau permutée.

Conserver cette solution en flacon en polyéthylène.

– Solution fille étalon de cadmium à 1 mg/L :

solution à 100 mg/L		10 mL
acide chlorhydrique (d = 1,19)		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décanter de 100 mL, introduire les quantités de réactifs suivants en agitant après chaque addition :

Numéro des ampoules à décanter	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon de cadmium à 1 mg/L (mL)	0	2	4	6	8	10
Eau déionisée (mL)	25	23	21	19	17	15
Correspondance en µg de cadmium	0	2	4	6	8	10
Solution de tartrate double de sodium et de potassium (mL)	1	1	1	1	1	1
Solution 1 d'hydroxyde de sodium-cyanure de potassium (mL)	5	5	5	5	5	5
Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine (mL)	1	1	1	1	1	1
Solution de dithizone à 10 mg/L (mL)	15	15	15	15	15	15

Boucher les ampoules et agiter 1 minute en prenant la précaution d'ouvrir le robinet de temps en temps pour permettre à la pression de s'équilibrer. Décanter rapidement la phase chloroformique dans une ampoule à décanter contenant 25 mL de solution froide d'acide tartrique. Faire une nouvelle extraction en ajoutant 10 mL de chloroforme dans chaque ampoule de la première série. Agiter 1 minute et décanter rapidement ce chloroforme dans la deuxième série d'ampoules.

Agiter les ampoules de la deuxième série 2 minutes et rejeter la phase chloroformique, laver la phase aqueuse par 5 mL de chloroforme. Ajouter successivement dans chaque ampoule 0,25 mL de solution de chlorhydrate d'hydroxylamine, 15 mL de solution de dithizone à 10 mg/L et 5 mL de solution 2 d'hydroxyde de sodium-cyanure de potassium. Agiter immédiatement 1 minute. Introduire un tampon de coton hydrophile dans la tige de chaque ampoule et filtrer la couche chloroformique. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 518 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Prélever 25 mL d'eau ou un volume d'eau convenable de façon à avoir une concentration comprise entre 0 et 0,010 mg. Opérer ensuite comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage en ayant soin de traiter de la même manière un témoin constitué par de l'eau permutée.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 518 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

La courbe donne la teneur de cadmium contenu dans la prise d'essai.

Remarques

– La limite de détection est de 0,02 mg/L.

– Les ions métalliques habituellement rencontrés dans l'eau n'interfèrent pas.

Des concentrations dans la prise d'essai de 6 mg de plomb, 3 mg de zinc et 1 mg de cuivre n'interfèrent pas.

– Si l'eau à analyser contient moins de 10 µg/L de cadmium, procéder à une concentration. Pour cela, ajouter 0,5 mL d'acide chlorhydrique à 200 mL d'eau et concentrer à 20 mL. Amener aux environs du *p*H 2,8 en présence de bleu de thymol par la solution d'hydroxyde de sodium. Ajuster à 25 mL avec l'eau déionisée.

7.13.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de cadmium à 100 mg/L.

Se reporter au § A-7.13.4.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 228,8 nm.

> **Remarques**
>
> – La limite de détection est de 2 µg/L.
>
> – La complexation du cadmium avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 0,5 et 50 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer.

7.13.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

Au moment du prélèvement, acidifier l'échantillon à *p*H < 2 avec de l'acide nitrique.

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Acide nitrique (*d* = 1,38).

– Solution mère étalon de cadmium à 1 g/L :

cadmium pur		0,1 g
acide nitrique	*q.s.p.*	dissoudre
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution fille étalon de cadmium à 10 mg/L.

Diluer au 1/100 la solution précédente en ajoutant 1,5 mL d'acide nitrique.

– Solution fille étalon de cadmium à 0,1 mg/L.

Diluer au 1/100 la solution précédente en ajoutant 1,5 mL d'acide nitrique.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions (dans l'eau déionisée acidifiée à *p*H < 2 avec HNO_3) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 10 µg/L).

Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 °C pendant 25 secondes, minéraliser à 900 °C pendant 30 secondes, puis atomiser à la température comprise entre 1 250 °C (sans modificateur) à 1 800 °C (avec modificateur) pendant 4 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 228,8 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 0,05 µg/L.

– En cas de perte de cadmium au cours de l'étape de minéralisation, l'addition de dihydrogénophosphate d'ammonium peut permettre d'y remédier.

– Le palladium ou le magnésium peuvent être utilisés comme modificateurs de matrice.

7.13.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

Réactifs

– Solution mère étalon de cadmium à 100 mg/L :

cadmium métal		100 mg
acide nitrique concentré		12 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le cadmium dans 4 mL d'acide nitrique concentré, puis en ajouter 8 mL, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées.

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 226,5 nm en ICP ou sur les isotopes 111 ou 114 en ICP/MS.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgrammes de cadmium par litre.

Remarque

La limite de détection est d'environ 0,3 µg/L en ICP et 0,05 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 5961 (septembre 1996). Qualité de l'eau – Dosage du cadmium par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-134).

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.14 Calcium

Les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique et par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma sont d'une bonne précision ; celle à l'EDTA donne des résultats satisfaisants pour des contrôles de routine.

7.14.1 Méthode titrimétrique à l'EDTA

■ Principe

Le principe est identique à celui de la méthode titrimétrique décrite pour la dureté totale (A-5.9.1). Toutefois, comme le dosage se fait à un *p*H élevé (12-13), le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. Par ailleurs, l'indicateur choisi, l'acide calcone carboxylique, ne se combine qu'avec le calcium pour former un complexe rouge.

□ Réactifs

– Solution d'EDTA 0,02 *N* (0,01 *M*).

Dissoudre 3,721 g de sel disodique de l'acide éthylène-diamine tétracétique (cristallisé 2 H_2O) dans un litre d'eau déionisée. 1 mL d'EDTA 0,02 *N* correspond à 0,4008 mg de calcium, soit 1 mg de carbonate de calcium.

À conserver dans des flacons en polyéthylène.

– Solution d'hydroxyde de sodium 2 *N*.

– Indicateur : acide calcone carboxylique :

acide [hydroxy-2-(hydroxyl-2-sulfo-4-naphtyl-azo-1)-1 naphtalène carboxylique] ou HSN	0,2 g
chlorure de sodium ou sulfate de sodium	100 g

Pulvériser l'indicateur et mélanger intimement avec le chlorure ou le sulfate de sodium.

– Solution étalon de calcium (0,01 *M*) :

carbonate de calcium pur	1,001 g

acide chlorhydrique 2 *N*	*q.s.p.* pour dissoudre
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

À conserver dans un flacon en polyéthylène.

Mode opératoire

Étalonnage de l'EDTA

Dans une fiole conique de 100 mL, introduire successivement :

solution étalon de calcium	20 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 50 mL
solution d'hydroxyde de sodium	2 mL
indicateur	0,2 g

Ajouter la quantité nécessaire de solution d'EDTA jusqu'à virage au bleu. Soit *x* le nombre de millilitres versés.

Effectuer le dosage une deuxième fois. Prendre la moyenne de ces deux titrages, soit *f* le rapport entre le titre ainsi mesuré de la solution d'EDTA et le titre théorique (0,01 *M*).

Dosage proprement dit

Dans une fiole conique de 250 mL, introduire successivement :

eau à analyser	50 mL
solution d'hydroxyde de sodium	2 mL
indicateur	0,2 g environ

Ajouter la quantité de solution d'EDTA nécessaire pour avoir un virage au bleu. Soit *y* le nombre de millilitres versés.

Effectuer le dosage une deuxième fois. Prendre la moyenne des deux résultats. Soit *V* le volume ainsi déterminé.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la teneur en calcium est égale à

$$\text{Ca (mg/L)} = \frac{V \times f \times 0{,}4008 \times 1\,000}{50}$$

La teneur en carbonate de calcium est égale à

$$\text{CaCO}_3\text{ (mg/L)} = \frac{V \times f \times 1\,000}{50}$$

Remarques

– La méthode convient aux eaux dont la concentration varie de 2 à 100 mg/L.

– La méthode n'est pas applicable aux eaux de mer et aux eaux de fortes minéralisations.

– Il existe de nombreux autres indicateurs pour le titrage du calcium : murexide, calcéine, calcon, etc.

– Le volume de la prise d'échantillon doit être tel que la quantité de calcium contenue soit comprise entre 5 et 10 mg. Pour des eaux de dureté élevée, prélever seulement 10 ou 25 mL et compléter à 50 mL avec de l'eau déionisée.

– La chélation avec le calcium et le magnésium libère 2 moles d'ion hydrogène pour chaque mol d'ions alcalino-terreux.

– Pour des eaux fortement chargées en hydrogénocarbonate, l'addition d'hydroxyde de sodium provoque la réaction suivante

$$Ca\ (CO_3H)_2 + 2\ NaOH \rightarrow CaCO_3 + Na_2CO_3 + 2\ H_2O$$

Le précipité de carbonate de calcium formé fausse les résultats. Il est alors recommandé d'utiliser le procédé suivant :

Évaporer à sec la prise d'essai. Reprendre le résidu par quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour décomposer les hydrogénocarbonates. Évaporer l'excès d'acide et diluer dans 50 mL d'eau déionisée. Continuer les opérations comme indiqué précédemment.

– Au *p*H 12-13 le précipité d'hydroxyde de magnésium est si peu soluble que le dosage du calcium laissé en solution est aussi satisfaisant que s'il n'y avait pas de magnésium. Cependant les résultats obtenus sont un peu faibles car le précipité d'hydroxyde de magnésium entraîne un peu de calcium.

– Si on ne recherche pas une grande précision, la méthode peut être simplifiée en opérant directement sur 50 mL et sans procéder à des essais comparatifs.

– Dans certaines conditions des ions peuvent gêner la réaction ou donner des réactions parasites. Le tableau ci-dessous indique les quantités limites admises pour les ions interférents.

Cations	Concentration mg/L	Anions	Concentration mg/L
Cu^{2+}	2	SO_4^{--}	10 000
Fe^{2+} et Fe^{3+}	20	CO_3H^-	500
Mn^{2+}	10	CO_3^{--}	050
Zn^{2+}	5	NO_3^-	500
Pb^{2+}	5	SiO_3^{--}	100
Al^{3+}	5		
Sn^{3+}	5		

Le plus souvent, ces ions donnent des complexes plus stables qu'avec l'EDTA. Ils bloquent ainsi l'indicateur. Il convient donc de les masquer ou de les éliminer.

Le cyanure de potassium masque, en donnant des complexes cyanurés très stables, des métaux tels que : Zn, Cu, Ni, Co, Fe^{2+}, Cd, Mg, Ag, Pt.

La triéthanolamine masque Al et Ti, Fe et Mg à l'état de traces.

En présence d'orthophosphates dans l'eau à analyser, il se forme dans la zone de *p*H de la mesure, un précipité avec le calcium.

– On peut préparer des solutions titrées d'EDTA par pesée directe : le titre des solutions préparées à partir du sel anhydre est exact à 100,00 %, celui des solutions préparées à partir du sel déshydraté est exact à 100,05 %.

7.14.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Acide chlorhydrique (*d* = 1,19).

– Acide chlorhydrique 0,1 *N* environ :

acide chlorhydrique (*d* = 1,19)	8 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Solution de lanthane à 20 g/L

oxyde de lanthane (O_3La_2)	24 g
acide chlorhydrique 0,1 *N*	50 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dans une fiole jaugée de 1 litre placée dans un bain de glace, introduire l'oxyde de lanthane, verser avec précaution et lentement l'acide chlorhydrique. La réaction est très exothermique. Après refroidissement, ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau déionisée.

– Solution mère étalon de calcium à 1 g/L :

carbonate de calcium déshydraté	2,497 g
acide chlorhydrique 0,1 *N*	*q.s.p.* dissolution
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dans un bécher, mettre en suspension le carbonate de calcium dans 100 mL d'eau déionisée, ajouter lentement une quantité juste suffisante d'acide chlorhydrique 0,1 *N* (250 mL environ) pour obtenir la dissolution du carbonate de calcium. Porter la solution quelques minutes à l'ébullition pour chasser le dioxyde de carbone dissous. Après refroidissement, transvaser dans une fiole jaugée de 1 litre, ajuster le volume avec de l'acide chlorhydrique 0,1 *N*. Conserver la solution dans un flacon en polyéthylène.

– Solution fille étalon de calcium à 20 mg/L :

solution mère étalon de calcium à 1 g/L	20 mL
acide chlorhydrique 0,1 *N*	*q.s.p.* 1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire 10 mL d'échantillon, 10 mL de solution de chlorure de lanthane puis ajuster le volume avec de l'acide chlorhydrique 0,1 *N*. Nébuliser la solution dans une flamme air-acétylène réductrice en intercalant de l'eau déionisée entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 422,7 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 0,1 mg/L.

– La solution de chlorure de lanthane permet d'éliminer les interactions dues à la silice, au phosphore, à l'aluminium et au fer.

– Pour les plus faibles concentrations en calcium, utiliser de préférence une flamme acétylène/protoxyde de diazote. Il en sera de même en présence de fortes minéralisations dues principalement aux phosphates, sulfates, aluminium et silice. Dans ce cas, utiliser à la place de la solution de lanthane une solution de césium ou de potassium préparée ainsi :

Solution de césium à 20 g/L :

chlorure de césium (CsCl)	25 g
acide chlorhydrique 0,1 *N*	1 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Solution de potassium à 20 g/L :

chlorure de potassium (KCl)	38 g
acide chlorhydrique 0,1 *N*	1 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Pour éviter le colmatage du brûleur et du nébuliseur, filtrer les échantillons contenant des matières en suspension après acidification.

7.14.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de calcium à 100 mg/L :

carbonate de calcium déshydraté	249,7 mg
acide nitrique dilué au demi	*q.s.p.* dissoudre
acide nitrique	10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

Mettre le carbonate de calcium en suspension dans l'eau, verser avec précaution de l'acide nitrique dilué au demi jusqu'à dissolution, ajouter en plus 10 mL d'acide nitrique et ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 228,80 nm en ICP.

Remarque

La limite de détection est d'environ 2 µg/L.

7.14.4 Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA

■ Principe

Le principe est le même que pour la mesure de la dureté calcique, mais l'utilisation de deux indicateurs permet de doser successivement, et sur un même échantillon, le calcium et le magnésium.

□ **Réactifs**

– Solution d'EDTA 0,02 *N*.

Dissoudre 3,721 g de sel disodique de l'acide éthylène-diamine tétracétique (cristallisé 2 H_2O) dans 1 litre d'eau déionisée. 1 mL d'EDTA 0,02 *N* correspond à 0,4008 mg de calcium, 1 mg de carbonate de calcium et 0,243 mg de magnésium.

– Solution tampon.

Mettre dans 400 mL d'eau déionisée 55 mL d'acide chlorhydrique concentré. Ajouter 310 mL de 2-aminoéthanol, 100 mg d'EDTA magnésien. Compléter à 1 litre par de l'eau déionisée.

– Solution de noir d'ériochrome :

noir d'ériochrome	0,5 g
triéthanolamine	100 g

– Solution de bleu d'ériochrome :

bleu d'ériochrome	100 mg
eau déionisée	100 mL
chlorhydrate d'hydroxylamine	0,25 g

– Solution d'hydroxyde de sodium *N*.

– Acide chlorhydrique *N*.

■ Mode opératoire

Ajouter à l'échantillon à analyser 3 mL de solution d'hydroxyde de sodium puis quelques gouttes de solution de bleu d'ériochrome. Verser la quantité nécessaire de solution d'EDTA pour obtenir le virage au violet. Noter cette quantité (V_1). Ajouter 3,2 mL d'acide chlorhydrique *N* et agiter durant 1 minute jusqu'à parfaite dissolution du précipité magnésien. Verser 5 mL de la solution tampon et 1 goutte de solution de noir d'ériochrome. Bien mélanger. Introduire la quantité de solution d'EDTA nécessaire au virage au bleu (V_2).

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL :

– La teneur en calcium est égale à

$$\text{Ca (mg/L)} = \frac{V_1 \times 0{,}4008 \times 1\,000}{50}$$

– La teneur en magnésium est égale à

$$\text{Mg (mg/L)} = \frac{V_2 \times 0{,}243 \times 1\,000}{50}$$

– La dureté totale, exprimée en $CaCO_3$ (mg/L), est égale à

$$\frac{(V_1 + V_2) \times 1\,000}{50}\ .$$

7.14.5 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF T90-003 (août 1984). Essais des eaux – Détermination de la concentration totale en calcium et magnésium – Méthode titrimétrique à l'EDTA.

NF T90-016 (août 1984). Essais des eaux – Dosage du calcium – Méthode titrimétrique à l'EDTA.

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires.

NF EN ISO 7980 (mars 2000). Qualité de l'eau – Dosage du calcium et du magnésium – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique (Indice de classement : T90-005).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

7.15 Carbonate et bicarbonate (ou hydrogénocarbonate)

Les carbonates totaux dissous dans les eaux sont liés par des équilibres acide-base à l'acide carbonique :

$$H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+ \qquad pK_a\ (25\ °C) = 6{,}35$$

$$HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-} + H^+ \qquad pK_a\ (25\ °C) = 10{,}33$$

Aux pH des eaux naturelles (entre 7 et 8) les carbonates sont sous formes HCO_3^- (ion bicarbonate ou hydrogénocarbonate) principalement avec des traces d'acide carbonique (ou de dioxyde carbone) et d'ion carbonate (notamment quand le pH est supérieur à 8,3 – 8,4).

Le dosage des carbonates totaux peut être réalisé très simplement par la détermination de l'alcalinité et plus précisément des titres TA et TAC (§A-5.7). Le tableau suivant présente les cas les plus fréquents de valeurs comparatives de ces titres (pour les eaux naturelles) et les concentrations (en ° français) qui peuvent en être déduites pour les ions hydrogénocarbonates et les ions carbonates.

Espèces carbonatées	Valeurs respectives des titres TA et TAC		
	Si TA = 0	Si TA < TAC/2	Si TA = TAC/2
CO_3^{2-}	0	2 TA	TAC
HCO_3^-	TAC	TAC – 2TA	0

7.15.1. Méthode par dosage du TA-TAC

Se reporter au § A-5.7.

7.15.2. Dosage du carbone minéral

Se reporter au § A-5.8.

Méthodes de référence

NF EN ISO 9963-2 (janvier 1996). Qualité de l'eau – Détermination de l'alcalinité – Partie 2 : détermination de l'alcalinité carbonate (Indice de classement T90-051).

NF EN ISO 9963-1 (février 1996). Qualité de l'eau – Détermination de l'alcalinité – Partie 1 : détermination de l'alcalinité totale et composite (Indice de classement T90-036).

7.16 Césium

7.16.1 Méthode au phosphomolybdate d'ammonium

Se reporter au § A-8.8.1.

7.16.2 Méthode du iodobismuthate de césium

Se reporter au § A-8.8.2.

7.16.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution d'acide chlorhydrique 0,1 N environ.
– Solution de chlorure de lanthane à 20 g/L :

Oxyde de lanthane (O_3La_2)	24 g
Acide chlorhydrique 0,1 N	50 mL
Eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dans une fiole jaugée de 1 litre placée dans un bain de glace, introduire l'oxyde de lanthane, verser avec précaution l'acide chlorhydrique. Après refroidissement, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

– Solution étalon à 100 mg/L :

Chlorure de césium	126,7 mg
Eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Solution fille à 5 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau déionisée couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Dans une fiole de 100 mL, introduire 10 mL d'échantillon, 10 mL de solution de chlorure de lanthane, puis ajuster le volume avec la solution d'acide chlorhydrique. Nébuliser dans une flamme air-acétylène réductrice en intercalant de l'eau ultra-pure entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 852,1 nm.

Remarques

– La limite détection usuelle est de 20 µg/L.

– La solution de chlorure de lanthane permet d'éliminer les interactions avec d'autres métaux.

Méthodes de référence

Cf. Bibliographie « Radioactivité ».

7.17 Chlorate

Les chlorates dans les eaux peuvent provenir soit d'une pollution (pollution industrielle ou pollution due au désherbage), soit provenir de la désinfection, notamment lorsqu'elle est pratiquée avec le dioxyde de chlore. En tant qu'herbicide, l'ion chlorate devrait faire l'objet d'une limite de qualité pour les eaux potables de 0,1 µg/L, mais aucune technique de dosage ne permet d'atteindre actuellement cette valeur. La méthode par chromatographie ionique permet toutefois d'atteindre quelques 10 à 30 µg/L.

7.17.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En présence d'orthotolidine et en milieu fortement acide, les chlorates donnent une coloration jaune susceptible d'un dosage spectrométrique.

Se reporter au § A-7.1.1.

□ Réactifs

– Utiliser de l'eau déionisée (ou ultra-pure).

– Solution acide d'orthotolidine :

chlorhydrate d'orthotolidine	0,4 g
eau déionisée	700 mL
acide chlorhydrique concentré	250 mL

Dissoudre le chlorhydrate d'orthotolidine dans l'eau. Ajouter l'acide lentement et en agitant. Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau déionisée. Conserver la solution en flacon de verre teinté. La solution doit être limpide et incolore ou légèrement colorée en jaune.

– Acide chlorhydrique concentré.

– Solution mère étalon de chlorate à 1 g/L :

chlorate de sodium		1,275 5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon de chlorate à 100 mg/L :

solution mère		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

À préparer juste avant l'emploi. Bien mélanger.

– Solution fille étalon à 5 mg/L :

solution fille à 100 mg/L		5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

À préparer juste avant l'emploi. Bien mélanger.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées.

Mode opératoire

Dans une cuve, introduire 4 mL d'eau à analyser et 1 mL d'orthotolidine. Mélanger. Ajouter rapidement et en agitant 5 mL d'acide chlorhydrique concentré. La solution se colore en jaune. Après 5 minutes et avant 30 minutes, effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 490 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'ion chlorate par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de l'ordre de 0,05 mg/L.

– Si la teneur en chlorates est inférieure à 2 mg/L, la lecture au spectromètre peut être faite à 448 nm.

– Après addition de la solution d'orthotolidine, le mélange doit être sensiblement incolore et limpide. Cependant, certaines substances colorantes, matières organiques et ions ferriques peuvent donner une coloration. La filtration peut être nécessaire. Les ions ferriques à une concentration de 1 mg/L donnent à 448 nm une coloration semblable à celle d'une eau contenant 0,008 mg/L de chlorate. Appliquer éventuellement un facteur de correction correspondant. La coloration peut aussi être due à la présence de certains agents oxydants qui libèrent le chlore. Dans les conditions de l'analyse, 1 mg de chlore par litre a le même effet que 0,55 mg de chlorate par litre. Enfin, l'ion nitrite peut donner une coloration jaune instable en solution acide et qui disparaît entre 30 et 60 minutes. Cet effet peut être éliminé par addition d'une solution légèrement acide d'azoture de sodium.

– La concentration maximale mesurable dans les conditions opératoires est de 10 milligrammes de chlorate par litre. Diluer si nécessaire.

– La reproductibilité de la méthode dépend de la qualité de l'acide chlorhydrique utilisé.

7.17.2 Méthode titrimétrique

■ Principe

L'ion chlorate est réduit en chlorures sous l'action du nitrite de sodium en milieu acide et à chaud. La totalité des chlorures est dosé par le nitrate mercurique en présence de diphénylcarbazide. L'ion chlorure existant initialement est dosé séparément sur un échantillon non traité. La concentration en chlorate est obtenue par différence entre les deux dosages.

□ **Matériel spécial**

– Burette au 1/20.
– Fioles coniques de 150 mL.
– Plaque chauffante.
– *p*H-mètre.

□ **Réactifs**

Utiliser des réactifs de qualité pour « analyses ».

– Eau déionisée à concentration en chlorure inférieure à 1 mg/L.
– Solution d'acide sulfurique à 2,5 % :

acide sulfurique (d = 1,83)		2,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution saturée de diphénylcarbazide dans l'alcool absolu.

Préparer extemporanément 5 mL de cette solution.

— Solution de nitrite de sodium :

nitrite de sodium		5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution étalon de chlorure de sodium à 0,5 g d'ion chlorure :

chlorure de sodium		0,826 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon de chlorate de sodium :

chlorure de sodium		1,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

1 mL de cette solution correspond à 0,500 mg d'ion chlorure et 1,170 mg d'ion chlorate.

– solution étalon de nitrate mercurique 0,05 *N* :

nitrate mercurique Hg $(NO_3)_2$, H_2O		0,857 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre à chaud le nitrate mercurique dans l'eau. Vérifier le *p*H qui doit être environ de 1,5. L'ajuster si nécessaire avec de l'acide nitrique. Ce réactif étant très hygroscopique, vérifier son titre avec la solution étalon de chlorure de sodium.

■ Mode opératoire

Réduction de l'ion chlorate en chlorure (dosage n° 1)

Introduire dans une série de fioles coniques de 150 mL, les réactifs suivants :

Volume	Témoin	Contrôle Solution Cl^-	Solution ClO_3^-	Dosage n° 1
Eau déionisée (mL)	50	0	0	0
Échantillon (mL)	0	0	0	50
Solution étalon ClO_3^- (mL)	0	0	50	0
Solution étalon Cl^- (mL)	0	50	0	0
Solution d'acide sulfurique (mL)	5	5	5	5
Solution de nitrite de sodium (mL)	3	3	3	3

Porter à l'ébullition chaque fiole pendant 10 min. Après refroidissement, vérifier le *p*H qui doit être de 1,5 environ, l'ajuster si nécessaire. Ajouter dans chaque fiole 2 gouttes d'indicateur et titrer avec la solution de nitrate mercurique jusqu'au virage de l'indicateur.

Dosage de l'ion chlorure présent dans l'échantillon (dosage n° 2)

Dans une série de fioles coniques de 150 mL, introduire les réactifs suivants :

eau déionisée (mL) : 3

échantillon (mL) : 50

solution d'acide sulfurique (mL) : 5

Ajouter deux gouttes d'indicateur et titrer avec la solution de nitrate mercurique.

Expression des résultats

Le titrage du témoin doit montrer l'absence de chlorures.

Le titrage de la solution étalon de chlorure permet de connaître le titre (soit *N* mL) de solution de nitrate mercurique pour titrer 50 mL de solution de chlorure à 500 mg/L.

Le titrage de 50 mL de la solution étalon de chlorate après réduction doit donner un volume identique de solution de nitrate mercurique. Il est témoin du rendement de la réduction des chlorates en chlorures.

Le titrage du dosage n° 1 correspond à la teneur en chlorate et en chlorure initiaux, dosés à l'état de chlorures totaux soit N_1 mL

$$\frac{500 \times N_1}{N} = X \text{ mg de chlorures totaux par litre.}$$

Dosage de l'ion chlorure dans le dosage n° 2 : soit N_2 mL

$$\frac{500 \times N_2}{N} = Y \text{ mg de chlorure par litre.}$$

Calcul de la teneur en mg de chlorates par litre

$$(X - Y) \times 2{,}34$$

Remarque

La limite de quantification du dosage est de 10 mg/L d'ions chlorate.

7.17.3 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 10304-4, juin 1999. Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide, Partie 4 : Dosage des ions chlorate, chlorure et chlorite dans les eaux faiblement contaminées.

7.18 Chlorite

La présence de l'ion chlorite dans les eaux est presque exclusivement due à la désinfection par le dioxyde de chlore et (beaucoup plus rarement) par l'hypochlorite de sodium. L'ion chlorite est le réducteur conjugué de l'oxydant dioxyde de chlore. Il serait donc logique de retrouver dans les eaux désinfectées une concentration de chlorites identique à la concentration de dioxyde de chlore consommée par l'eau. Toutefois, le rapport « ClO_2^- formé/ClO_2 consommé » observé est généralement de 0,6 à 0,7 mg de chlorites par mg de dioxyde de chlore consommé.

C'est donc à quelques centaines de μg/L que les chlorites vont devoir être dosés dans les eaux destinées à la consommation humaine où ils sont tolérés jusqu'à 200 μg/L.

7.18.1 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 10304-4 (juin 1999). Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide, Partie 4 : Dosage des ions chlorate, chlorure et chlorite dans les eaux faiblement contaminées.

7.19 Chlorure (référence de qualité « Eau potable »)

Parmi les méthodes préconisées, l'argentimétrie est utilisée pour les eaux relativement claires contenant de 0,15 à 10 mg/L de chlore dans l'aliquote. La potentiométrie convient aux eaux colorées ou troubles pour lesquelles les virages colorimétriques peuvent être difficiles à percevoir. Elle peut être utilisée sans prétraitement en présence d'ions ferriques à condition que la teneur soit inférieure à la concentration en chlorures. Il en est de même pour les ions chrome, phosphate ferreux et les autres métaux lourds.

La méthode par flux continu se prête à des mesures en série. La chromatographie ionique s'applique à des teneurs supérieures au mg/L.

Une méthode par chromatographie ionique adaptée permet de doser des traces de chlorures (cf. § A-7.1.3).

Le titre en sels d'acides forts (SAF ou Taci) permet d'obtenir un excellent ordre de grandeur de la somme « chlorures + sulfates + nitrates » applicable à la plupart des eaux naturelles (cf. § A-5.10).

7.19.1 Méthode de Mohr

■ Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

□ **Réactifs**

– Acide nitrique pur.

– Carbonate de calcium pur.

– Solution de chromate de potassium à 10 %.

– Solution de nitrate d'argent 0,1 *N*.

■ Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau à analyser (préalablement filtrée si nécessaire). Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique pur puis une pincée de carbonate de chaux et 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10 %.

Verser alors au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 minutes.

Soit V le nombre de millilitres de nitrate d'argent 0,1 N utilisés.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL :

$V \times 10 \times 3{,}55$ donne la teneur en chlorures, exprimée en milligrammes de Cl^- par litre d'eau.

$V \times 10 \times 5{,}85$ donne la teneur en chlorures exprimée en milligrammes de NaCl par litre d'eau.

Remarques

– Dans le cas d'eaux très peu minéralisées, opérer par la technique de Charpentier-Volhard (teneur en chlorures inférieure à 30 mg/L).

– Dans le cas d'eaux contenant des sulfures, des thiosulfates ou des matières organiques en quantité importante, utiliser la technique de Charpentier-Volhard. On peut aussi détruire ces composés en ajoutant goutte à goutte une solution de permanganate de potassium environ 0,1 *N* jusqu'à coloration persistante, puis décolorer par une goutte d'eau oxygénée à 3 %.

– Dans le cas d'eaux alcalines à la phénolphtaléine ajouter de l'acide nitrique au 1/10 jusqu'à décoloration de la phénolphtaléine en évitant d'ajouter un excès d'acide. Pratiquer alors le dosage comme l'indique la technique.

7.19.2 Méthode de Charpentier-Volhard

Principe

Les chlorures d'un volume connu d'eau sont précipités en présence d'acide nitrique par un excès de nitrate d'argent titré. L'excès de sel argentique est déterminé par une solution titrée de thiocyanate d'ammonium en présence d'alun de fer.

Réactifs

– Acide nitrique pur.

– Solution de nitrate d'argent 0,1 *N*.

– Solution de thiocyanate de potassium ou d'ammonium 0,1 *N*.

– Alun ferrique ammoniacal en solution saturée, décolorée par quelques gouttes d'acide nitrique.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau filtrée dans une fiole conique de 250 mL, puis une quantité connue de nitrate d'argent 0,1 *N* en excès. Soit *V* millilitres de nitrate d'argent utilisés. Ajouter alors 5 mL d'acide nitrique concentré et 2 mL d'alun ferrique. Titrer l'excès de nitrate d'argent par le thiocyanate 0,1 *N* jusqu'à coloration rougeâtre persistante, en agitant après chaque addition de réactif. Soit ν le nombre de millilitres de thiocyanate versés.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL :

$(V - \nu) \times 10 \times 3{,}55$ donne la teneur en chlorures, exprimée en milligrammes de Cl^- par litre d'eau.

$(V - \nu) \times 10 \times 5{,}85$ donne la teneur en chlorures, exprimée en milligrammes de NaCl par litre d'eau.

Remarques

– L'écart-type relatif est de l'ordre de 4 % pour une concentration voisine de 250 mg/L.

– La présence de bromures, d'iodures et de cyanures entraîne des erreurs par excès.

– Pour obtenir des résultats plus précis, il convient de séparer par filtration le précipité d'halogénure d'argent et d'effectuer le dosage sur une partie aliquote du filtrat.

– Dans le cas des eaux contenant des sulfures, des thiosulfates ou des matières organiques en quantité importante, il convient de détruire ces corps par oxydation avant le dosage. Utiliser alors la technique suivante :

Introduire la prise d'essai dans une fiole conique ainsi que le nitrate d'argent et l'acide nitrique. Faire bouillir pendant 5 minutes avec une quantité suffisante de permanganate de potassium jusqu'à teinte rose très faible. Détruire l'excès de permanganate par du nitrite de sodium, du glucose, ou de l'alcool et laisser refroidir. Compléter à un volume connu et opérer le dosage sur une partie aliquote de la solution.

– Les orthophosphates à une teneur supérieure à 25 mg/L précipitent sous forme de phosphate d'argent.

– Si l'eau à analyser est très colorée, ajouter 3 mL d'une suspension d'hydroxyde d'aluminium (dissoudre 125 g d'alun K_2Al_2 $(SO_4)_4$ 24 H_2O dans un litre d'eau permutée, chauffer à 60 °C et ajouter 55 mL d'ammoniaque concentrée ; laver plusieurs fois de suite le précipité, laisser reposer et filtrer.

7.19.3 Méthode potentiométrique et coulométrique (*)

Ces méthodes sont utilisables pour le dosage des chlorures dans les eaux naturelles, en particulier en présence d'eaux colorées ou troubles, ou pour des concentrations très faibles qui peuvent alors être mesurées avec une grande précision.

7.19.4 Méthode par flux continu (méthode CFA) et détection photométrique

■ Principe

Les chlorures en présence de thiocyanate mercurique forment un chlorure mercurique soluble mais non ionisé ; les ions thiocyanates ainsi libérés, en présence d'ions ferriques, forment un complexe coloré rouge susceptible de dosage spectrométrique.

Se reporter au §A-7.1.2.

☐ Réactifs

– Solution de thiocyanate mercurique :

Brij 35 (polyoxyéthylène (23) lauryl éther)		1 mL
thiocyanate mercurique		4,17 g
méthanol	*q.s.p.*	1 000 mL

Filtrer la solution après agitation.

– Solution de nitrate ferrique :

nitrate ferrique, 9 H_2O		202 g
acide nitrique		31,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver en flacon brun.

– Réactif :

solution de thiocyanate mercurique		150 mL
solution de nitrate ferrique		150 mL
Brij 35 (polyoxyéthylène (23) lauryl éther)		1 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution tampon de sulfate de sodium :

sulfate de sodium Na_2SO_4 , 7 H_2O		8 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

(*) Cf. Suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

– Solution étalon à 20 g/L de Cl^- :

chlorure de sodium		33,16 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution étalon, préparer avec de l'eau déionisée contenant 2 mL/L de Brij 35 une série de dilutions comprises entre 0 et 500 mg/L de Cl^- pour les eaux peu chargées et entre 0,5 et 20 g/L pour les eaux chargées.

Poursuivre comme pour le mode opératoire.

Mode opératoire

Se reporter aux schémas d'utilisation. La cadence des déterminations est de 30 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 80 secondes pour une prise d'échantillon de 40 secondes. Faire fonctionner l'appareil avec les réactifs et de l'eau permutée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures au spectromètre à 480 nm.

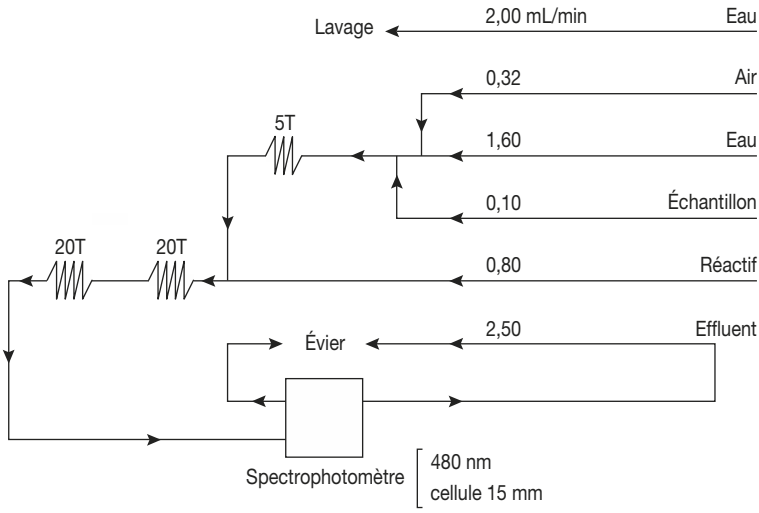


Schéma d'utilisation gamme 0 à 500 mg/L

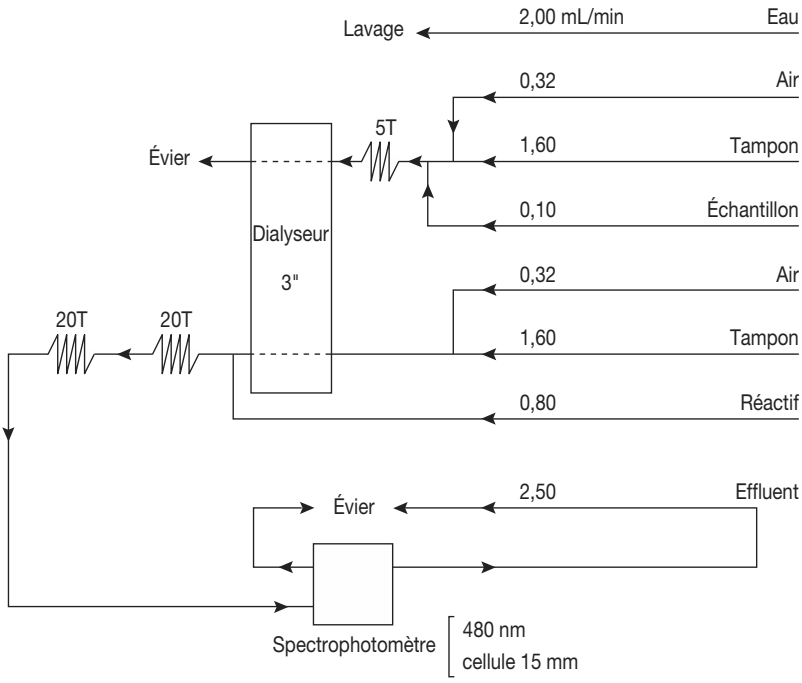


Schéma d'utilisation gamme 0 à 20 g/L

■ Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en chlorures (Cl^-) exprimée en mg/L.

> **Remarque**
> Il existe une méthode avec détection potentiométrique.

7.19.5 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 10304-1 (juillet 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthodes applicables pour les eaux faiblement contaminées (indice de classement T90-042).

AFNOR NF ISO 9297 (février 2000) – Qualité de l'eau – Dosage des chlorures – Titrage au nitrate d'argent avec du chromate de potassium comme indicateur (méthode de Mohr) (indice de classement T90-014).

AFNOR NF EN ISO 15682 (décembre 2001) Qualité de l'eau – Dosage des ions chlorure par analyse en flux (CFA et FIA) et détection photométrique ou potentiométrique (indice de classement T90-082).

7.20 Chromate

7.20.1 Dosage du chrome hexavalent

Se reporter aux § A-7.21.1, A-7.21.2 et A-7.21.3.

7.20.2 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 10304-3 (octobre 1997). Dosage des anions par chromatographie des ions en phase liquide, Partie 3 : Dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate (indice de classement T90-043).

7.21 Chrome (limite de qualité « Eau potable »)

Dans les eaux de surface et les eaux potables, la répartition du chrome sous ses différentes valences est encore imparfaitement élucidée. En fonction des problèmes techniques, de la réglementation ou des risques toxicologiques, il conviendra de choisir la méthode la plus adaptée au problème posé. Le chrome hexavalent sera susceptible d'être individualisé par spectrométrie d'absorption moléculaire ou par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma.

Dans le cas de la mesure du chrome total, l'échantillon additionné d'acide nitrique jusqu'à $pH < 1,5$ pourra être conservé deux mois. Dans le cas du dosage du chrome hexavalent, l'échantillon prélevé sans addition de conservateur sera filtré et conservé à 4 °C ; pratiquer l'analyse dans les 24 heures.

Dans le cas d'eaux de $pH < 7$, le chrome hexavalent étant susceptible d'être réduit en présence de sulfites et de sulfures, il conviendra de neutraliser et d'aérer l'échantillon.

7.21.1 Chrome hexavalent par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En solution légèrement acide, le chrome hexavalent réagit avec la diphénylcarbazide pour donner une coloration rouge violet susceptible d'un dosage par spectrométrie d'absorption moléculaire.

Se reporter au § A-7.1.1.

□ Réactifs

– Eau déionisée exempte de toute trace de chrome.

– Acide nitrique ($d = 1,40$).

– Acide sulfurique chimiquement pur ($d = 1,83$).

– Solution d'acide sulfurique à 176 g/L environ :

acide sulfurique		100 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Verser avec précaution 100 mL d'acide sulfurique dans 100 mL d'eau. Après refroidissement, transvaser dans une fiole jaugée de 1 L. Ajuster le volume.

– Alcool éthylique à 95 °.

– Solution acide de diphénylcarbazide :

1-5 diphénylcarbazide chimiquement pure		0,2 g
alcool éthylique à 95 °	*q.s.p.*	100 mL
solution d'acide sulfurique à 176 g/L :		400 mL

Conservée au réfrigérateur et en flacon teinté, cette solution est stable un mois environ.

– Solution mère étalon de chrome à 1 g/L :

dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$)		2,829 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de chrome à 5 mg/L :

solution mère étalon		5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 500 µg/L).

Mode opératoire

Dans une fiole jaugée bouchée émeri, introduire 50 mL d'eau à analyser et 3 mL de la solution acide de diphénylcarbazide. Agiter et laisser au repos 10 minutes. Préparer un témoin dans les mêmes conditions avec 50 mL d'eau déionisée.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 540 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Remarques

– La limite de détection est de l'ordre de 5 µg/L.

– La méthode est directement applicable pour les eaux destinées à la consommation humaine, les eaux de surface et les eaux résiduaires industrielles dont la concentration en chrome (VI) est inférieure à 0,5 mg/L.

– La méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire est très spécifique du chrome à l'état d'oxydation maximum. Une oxydation du Cr^{III} en Cr^{VI} est cependant possible.

– Les interférences pratiquement inexistantes pour les eaux naturelles apparaissent pour les eaux industrielles et résiduaires. Certains ions métalliques : molybdène, mercure, vanadium et fer, peuvent gêner le dosage. Les eaux résiduaires en provenance de stations de détoxication d'ateliers de traitement de surface sont riches en réducteurs ou oxydants. Les sulfites en excès peuvent provoquer une réduction du chrome hexavalent au moment de l'acidification de l'échantillon après filtration, alors qu'un excès d'oxydant est susceptible d'entraîner une oxydation du chrome (III) en chrome (VI).

7.21.2 Chrome hexavalent par spectrométrie d'absorption avec flamme après complexation et extraction

■ Principe

Cette méthode est spécifique du chrome hexavalent. Au *p*H utilisé (2,5), seul est extrait le chrome hexavalent.

La complexation du chrome avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinodithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 1 et 200 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer.

Cette méthode n'est applicable pour le dosage du chrome total qu'après transformation de la totalité du chrome en chrome hexavalent.

(Se reporter au dosage du chrome total par spectrométrie d'absorption moléculaire.)

7.21.3 Chrome hexavalent par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe

Le chrome hexavalent, séparé à l'état de chromate de plomb par coprécipitation par le sulfate de plomb en milieu acétique, est réduit en chrome trivalent puis déterminé par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma.

■ Prélèvements

Effectuer cette analyse au maximum 24 heures après le prélèvement, sur l'échantillon prélevé sans addition de conservateur.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.6.

□ Réactifs

– Solution de nitrate de plomb à 331 g/L :

nitrate de plomb Pb $(NO_3)_2$		331 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de sulfate d'ammonium à 27 g/L :

sulfate d'ammonium $(NH_4)_2\ SO_4$		27 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de nitrate de calcium à 118 g/L :

nitrate de calcium Ca $(NO_3)_2$, 4 H_2O		118 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Acide nitrique suprapur.

– Acide acétique glacial suprapur.

– Solution d'acide acétique à 10 % :

acide acétique		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution d'hydroxyde d'ammonium à 10 % :

hydroxyde d'ammonium suprapur		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Peroxyde d'hydrogène à 30 % suprapur.

– Solution étalon mère de chrome hexavalent à 1 g/L :

dichromate de potassium $K_2 Cr_2 O_7$ déshydraté		2,8285 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution mère étalon de chrome trivalent à 0,5 g/L.

Prélever 500 mL de solution mère étalon de chrome hexavalent, ajouter :

eau oxygénée		1 mL
acide nitrique		1 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, préparer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon de chrome (III) à 0,5 mg/L (mL)	0	1	2	5	10	20
Eau oxygénée (mL)	1	1	1	1	1	1
Acide nitrique concentré (mL)	1	1	1	1	1	1
Eau ultra-pure (mL) *q.s.p.*	100	100	100	100	100	100
Correspondance en mg/L de chrome (III)	0	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100

Mode opératoire

Transférer 50 mL de l'échantillon filtré dans un bécher de 100 mL. Ajuster le *p*H à 3,5 ± 0,3 par ajout d'acide acétique à 10 %. Si l'échantillon est déjà à un *p*H inférieur à 3, ajuster au *p*H désiré avec la solution d'hydroxyde d'ammonium à 10 %. Dans les deux cas, noter le volume de réactif nécessaire à l'ajustement du *p*H.

Prélever 10 mL de l'échantillon à *p*H 3,5 et le verser dans un tube à centrifuger de 10 mL ; ajouter 0,1 mL de solution de nitrate de plomb. Boucher, mélanger et laisser reposer 3 min.

Pour maintenir en solution le chrome trivalent, ajouter 0,5 mL d'acide acétique puis agiter et ajouter 0,1 mL de solution de sulfate d'ammonium pour favoriser la coprécipitation. Mettre les tubes dans la centrifugeuse, monter la vitesse à 2 000 tr/min par petits paliers de façon à atteindre cette vitesse

en 5 min, la maintenir 10 min. Éliminer le surnageant. Ajouter au précipité 0,5 mL d'acide nitrique concentré, 0,1 mL d'eau oxygénée et 0,1 mL de solution de nitrate de calcium. Agiter jusqu'à solubilisation et compléter à 10 mL par de l'eau déionisée. Effectuer le dosage dans les mêmes conditions que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Remarques

– La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et 0,01 µg/L en ICP/MS.

– Dans le cas de solutions trop concentrées, opérer sur 50 mL d'une solution diluée d'échantillon.

– Pour tester la coprécipitation, opérer soit à partir d'une solution de dichromate à 50 µg/L directement, soit à partir des 10 mL d'un échantillon ajusté à *p*H 3,5 par ajout d'une solution mère de dichromate.

7.21.4 Chrome total par spectrométrie d'absorption moléculaire

Principe

Le chrome hexavalent déjà existant est réduit en chrome trivalent par le sulfite de sodium en présence d'acide sulfurique. Le chrome total, transformé en chrome trivalent, est oxydé par une solution de permanganate de potassium et dosé spectrométriquement sous forme hexavalente. Cette méthode est recommandée pour les eaux contenant des matières organiques.

Se reporter au § A-7.1.1.

Réactifs

Se reporter au dosage du chrome hexavalent (§ A-7.21.1).

– Solution d'acide sulfurique au demi.

– Solution de sulfite de sodium :

sulfite de sodium		1,26 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Cette solution doit être fraîchement préparée. 1 mL de cette solution réduit environ 3,4 mg de Cr^{VI} en Cr^{III}.

– Solution de permanganate de potassium :

permanganate de potassium		0,632 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution d'azoture de sodium (NaN_3) :

azoture de sodium (dangereux à manipuler)		0,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Se reporter au dosage du chrome hexavalent (§ A-7.21.1).

Mode opératoire

Traiter dans une fiole conique 25 mL d'eau à analyser par 5 mL de solution d'acide sulfurique au 1/2 et 1 mL de solution de sulfite de sodium. Agiter.

Après 10 minutes de repos, porter au bain de sable et laisser les vapeurs se dégager pendant 5 minutes, en obturant la fiole conique avec un entonnoir. Refroidir et diluer à environ 80 mL. Porter à ébullition et ajouter goutte à goutte de la solution de permanganate de potassium jusqu'à coloration rose persistante.

Verser alors quelques gouttes de solution de permanganate de potassium en excès. Porter de nouveau à ébullition 10 minutes, puis ajouter goutte à goutte de la solution d'azoture de sodium jusqu'à décoloration de la solution mais en évitant d'en mettre en excès. Maintenir l'ébullition 2 minutes. Refroidir. Filtrer si nécessaire. Transvaser dans une fiole jaugée de 50 mL. Rincer et ajuster à 50 mL avec de l'eau déionisée. Procéder au dosage spectrométrique selon la méthode du chrome VI.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 25 mL, le chiffre lu sur la courbe multiplié par 2, donne la teneur en chrome total exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– Le chrome ayant tendance à se fixer sur les parois, il est recommandé d'utiliser pour les prélèvements des récipients neufs. De plus, le chrome hexavalent étant facilement réductible, il est recommandé plus particulièrement en présence d'eaux résiduaires de maintenir le prélèvement à 4 °C et de pratiquer l'analyse dès que possible.

– Le mercure peut gêner le dosage en donnant une coloration bleue mais ce phénomène est peu sensible étant donné l'acidité de la réaction.

– Le fer donne également une coloration et il est surtout gênant au-delà d'un milligramme par litre.

– Le vanadium donne une coloration rouge-brun qui disparaît au bout de 15 minutes.

– Se méfier de la vaisselle nettoyée au mélange sulfochromique. De toute façon, pratiquer un lavage à l'acide nitrique ou à l'acide chlorhydrique.

7.21.5 Chrome total par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de chrome à 100 mg/L :

dichromate d'ammonium	242,4 g
acide nitrique concentré	10 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le dichromate d'ammonium dans de l'eau, ajouter 10 mL d'acide nitrique puis ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 357,94 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 20 µg/L.

– La complexation du chrome avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinodithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables à partir de 1 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (A-7.26).

7.21.6 Chrome total par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

La solution est injectée à l'intérieur d'un four de graphite, où elle est séchée puis minéralisée et où enfin, dans une dernière phase, les sels de chrome sont dissociés à l'état de chrome atomique.

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Acide nitrique.

– Solution mère étalon de chrome à 1 g/L :

dichromate d'ammonium	2,424 g
acide nitrique	60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

– Solution fille étalon de chrome à 1 mg/L.

Diluer au 1/1 000 la solution mère après avoir ajouté 1 mL d'acide nitrique.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, trois ou quatre dilutions (dans l'eau ultra-pure acidifiée à pH , 2 avec HNO3) dans la gamme des concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 20 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher entre 100 °C pendant 15 secondes, minéraliser (pyrolyse) entre 1050 °C (sans modificateur) et 1650 °C (avec modificateur) pendant 15 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 2300 °C (sans modificateur) à 2600 °C (avec modificateur) pendant 1 seconde. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 357,9 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 0,5 µg/L.

– Pour éliminer l'effet de mémoire dû à la formation de carbure non décomposé totalement au cours de l'atomisation, prolonger le programme thermique en portant le four à la température maximale pendant 4 secondes.

– Le magnésium peut être utilisé comme modificateur de matrice.

7.21.7 Chrome total par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de chrome à 100 mg/L :

oxyde de chrome CrO_3		192,3 mg
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre l'oxyde de chrome dans de l'eau ultra-pure, ajouter l'acide nitrique concentré puis ajouter le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 205,55 nm en ICP ou sur l'isotope 52 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et 0,01 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF T 90-043 (octobre 1988) Essais des eaux – Dosage du chrome VI – Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire.

AFNOR NF EN 1233. Qualité de l'eau (septembre 1996) – Dosage du chrome par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-133).

AFNOR NF EN ISO 15586. Qualité de l'eau (mai 2004) – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

NF EN ISO 18412 (Avril 2007). Qualité de l'eau - Dosage du chrome (VI) - Méthode photométrique pour des eaux faiblement contaminées (Indice de classement T90-055).

7.22 Cobalt

La méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme permet de mesurer des concentrations comprises entre 50 et 500 µg/L ; la méthode avec extraction peut diminuer ce seuil de mesure. La méthode par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique, plus sensible, convient à des valeurs comprises entre 5 et 100 µg/L ; enfin, la méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma s'adresse à des concentrations de l'ordre de plusieurs dizaines de µg/L en ICP et quelques µg/L en ICP/MS.

7.22.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de cobalt à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du cobalt par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (§ A-7.22.3).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 240,7 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 30 µg/L.

– La complexation du cobalt avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables à partir 1 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (§ A-7.26).

7.22.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomiseur électrothermique)

Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

Réactifs

– Acide nitrique (d = 1,38).

– Solution de cobalt à 1 g/L :

chlorure de cobalt ($CoCl_2$, 6 H_2O)		4,037 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon de cobalt à 1 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution étalon, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 50 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher entre 90 et 180 °C pendant 60 secondes, minéraliser (pyrolyse) entre 1 100 °C (sans modificateur) et 1 400 °C (avec modificateur) pendant 30 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 2 200 °C (sans modificateur) à 2 400 °C (avec modificateur) pendant 12 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 240,7 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 1 µg/L.

– Le magnésium peut être utilisé comme modificateur de matrice.

– Dans le cas où une concentration de l'élément à doser est nécessaire, utiliser l'une des méthodes décrites dans le chapitre Analyse de l'eau de mer.

7.22.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de cobalt à 100 mg/L :

cobalt métal	100 mg
acide nitrique au demi	*q.s.p.* dissolution
acide chlorhydrique au demi	10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le cobalt dans un minimum d'acide nitrique puis ajouter 10 mL d'acide chlorhydrique.

Ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 228,62 nm ou en ICP ou sur l'isotope 59 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et 0,01 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

FD T 90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 8 éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.23 Cuivre (limite de qualité « Eau potable »)

Les méthodes par spectrométrie d'absorption moléculaire à la néocuproine, par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique et par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma ne sont en principe pas sujettes aux interférences.

Effectuer le dosage du cuivre dès le prélèvement car il a tendance à se fixer sur les parois des flacons. En cas d'impossibilité, acidifier l'échantillon au moment du prélèvement avec 5 mL d'acide chlorhydrique par litre d'eau.

7.23.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Les ions cuivreux en milieu neutre ou légèrement acide réagissent avec 2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline (néocuproine) pour former un complexe dans lequel deux molécules de néocuproine sont liées à une molécule de cuivre. Le complexe est extrait par le chloroforme. La coloration jaune obtenue est susceptible d'un dosage spectrométrique à la longueur d'onde de 457 nm.

☐ Matériel spécial

– Ampoules à décanter de 125 mL avec bouchon de verre ou téflon.

– Se reporter au § A-7.1.1.

☐ Réactifs

– Acide nitrique (*d* = 1,38).

– Acide chlorhydrique (*d* = 1,19).

– Acide sulfurique (*d* = 1,83).

– Méthanol.

– Chloroforme.

– Papier rouge congo ou autre papier test motrant un changement de couleur entre 4 et 6. Le pH doit être contrôlé à environ 4.

– Hydroxyde d'ammonium 5 *N* :

hydroxyde d'ammonium (*d* = 0,925)	330 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

À conserver en flacon de polyéthylène.

– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine :

chlorhydrate d'hydroxylamine (NH_2OHHCl)	50 g
eau déionisée	450 mL

– Réactif à la néocuproine :

néocuproine (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline)	100 mg
méthanol	100 mL

Conservée à l'obscurité à 4 °C, cette solution est stable plus d'un mois.

– Solution de citrate de sodium :

citrate de sodium ($Na_3C_6H_5O_7$, 2 H_2O)	150 g
eau déionisée	400 mL
solution d'hydroxylamine	5 mL
réactif à la néocuproine	10 mL

Traiter la solution par 50 mL de chloroforme pour extraire éventuellement les impuretés cuivriques, rejeter la phase chloroformique.

– Solution mère étalon de cuivre à 200 mg :

cuivre électrolytique	200 mg
acide nitrique	5 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Introduire le cuivre dans une fiole conique de 250 mL. Ajouter 10 mL d'eau déionisée et 5 mL d'acide nitrique. Quand la réaction est moins vive, chauffer légèrement pour activer la dissolution puis porter à l'ébullition pour chasser les oxydes d'azote. Après refroidissement, transvaser avec précaution dans une fiole jaugée de 1 litre. Ajuster le volume avec de l'eau déionisée.

– Solution fille étalon de cuivre à 20 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décanter de 125 mL, procéder aux dilutions suivantes :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon à 20 mg/L (mL)	0	1	2,5	5	7,5	10
Eau déionisée (mL)	50	49	47,5	45	42,5	40
Correspondance en mg/L de cuivre	0	0,4	1	2	3	4

Ajouter 1 mL d'acide sulfurique. Poursuivre comme pour le mode opératoire à partir de l'ajout de 5 mL d'hydroxylamine. Tracer la courbe d'étalonnage. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'échantillon dans un bécher de 250 mL, ajouter 1 mL d'acide sulfurique, 5 mL d'acide nitrique et quelques billes de verre. Chauffer avec précaution sur une plaque chauffante jusqu'à émission de vapeurs blanches. Si la solution reste colorée, la laisser refroidir, ajouter à nouveau 5 mL d'acide nitrique concentré et répéter l'opération précédente jusqu'à ce que la solution soit incolore. Refroidir, ajouter environ 80 mL d'eau, porter à nouveau à l'ébullition. Refroidir et filtrer dans une fiole jaugée de 100 mL. Ajuster le volume. Prélever 50 mL ou une aliquote contenant de 4 à 200 µg de cuivre ajustée à 50 mL, l'introduire dans une ampoule

à décanter de 125 mL, ajouter 5 mL de solution d'hydroxylamine et 10 mL de solution de citrate, mélanger avec soin. Ajuster le *p*H à 4 approximativement en ajoutant de l'hydroxyde d'ammonium jusqu'à ce que le papier au rouge congo vire au rouge. Ajouter alors 10 mL de réactif à la néocuproine et 10 mL de chloroforme ; boucher l'ampoule, agiter vigoureusement 30 secondes pour extraire le complexe par le chloroforme. Laisser les couches se séparer, soutirer le chloroforme dans une fiole jaugée de 25 mL. Procéder à une dernière extraction avec 10 mL de chloroforme. Ajuster le volume à 25 mL, mélanger. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 543 nm en cuves de 1 cm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en cuivre, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– Utiliser des cuves de 5 cm pour des concentrations dans la prise d'essai inférieures à 40 µg. La sensibilité de la méthode est de 3 µg pour des lectures en cuves de 1 cm et de 6 µg pour celles de 5 cm.

– De grandes quantités de chrome et d'étain peuvent interférer. L'addition d'acide sulfureux réduit les chromates et complexe les ions chromiques. Les interférences dues aux cyanures, sulfures et matières organiques sont éliminées par la minéralisation.

7.23.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5).

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de cuivre à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du cuivre par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (A-7.23.4).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées.

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 324,7 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgrammes de cuivre par litre.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– La complexation du cuivre avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables à partir de 1 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (A-7.26).

7.23.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide nitrique (*d* = 1,38).

– Solution mère étalon de cuivre à 1 g/L :

cuivre métallique		1 g
acide nitrique		60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon de cuivre à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées.

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher entre 110 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à 1 100 °C (avec ou sans modificateur) pendant 40 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 2 300 °C (sans modificateur) à 2 600 °C (avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 324,7 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgrammes de cuivre par litre.

Remarques

– La limite de détection est de 0,5 µg/L.

– Le palladium ou le magnésium peuvent être utilisés comme modificateurs de matrice.

7.23.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de cuivre à 100 mg/L :

cuivre métal	100 mg
acide nitrique concentré	12 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le cuivre dans 2 mL d'acide nitrique concentré puis ajouter 10 mL d'acide nitrique. Ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 324,75 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgrammes de cuivre par litre.

Remarque

La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et 0,02 µg/L en ICP/MS.

Se reporter au § A-7.1.6.

Méthodes de référence

FD T 90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 8 éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.24 Cyanure (limite de qualité « Eau potable »)

Les cyanures sont présents dans les eaux sous différentes formes :

– acide cyanhydrique ou prussique,

– ions cyanure,

– cyanure complexé (complexes de cyanure).

Ils peuvent être dosés sous forme de cyanures totaux ou de cyanures libres par différentes méthodes. Un indice cyanure est également défini. Bien que certaines des méthodes puissent atteindre des concentrations inférieures à celle tolérée dans les eaux naturelles et dans l'eau potable, les cyanures sont très rarement présents dans ce type d'eaux. C'est dans les eaux résiduaires, notamment industrielles, qu'ils sont souvent dosés. Les méthodes sont donc développées dans le chapitre D concernant les eaux résiduaires.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 14403 (mai 2002). Qualité de l'eau – Dosage des cyanures totaux et des cyabures libres par analyse en flux continu (indice de classement T90-081).

AFNOR NF T 90-107 (août 2002). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice cyanure.

7.25 Étain

7.25.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.5.1.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.5.1.

□ Réactifs

– Solution mère étalon d'étain à 1 g/L :

étain pur		0,1 g
acide sulfurique	*q.s.p.*	dissoudre
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

Attaquer l'étain pur par un volume minimum d'acide sulfurique concentré et chaud. Après dissolution, transvaser dans une fiole jaugée de 100 mL. Ajuster le volume.

– Solution fille étalon d'étain à 10 mg/L (à préparer au moment de l'emploi).
– Solution fille étalon d'étain à 0,1 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 60 µg/L).

Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher entre 100 °C pendant 60 secondes, minéraliser (pyrolyse) à 500 °C pendant 30 secondes, puis atomiser à une température de 2 400 °C. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 224,6 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 1 µg/L.

– La méthode par génération d'hydrure permet d'obtenir la même sensibilité ; se reporter à la méthode décrite pour le dosage de l'arsenic (A-7.6.2).

– Le palladium ou le magnésium peuvent être utilisés comme modificateurs de matrice.

7.25.2 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6

Réactif

– Préparer une solution étalon mère à 1 000 mg/L.
– Se reporter au § A-7.1.6.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon mère quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 196,02 ou 203,98 nm en ICP ou sur les isotopes 118 ou 120 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 50 µg/L en ICP et 0,01 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.26 Fer (référence de qualité « Eau potable »)

Le fer peut se rencontrer dans l'eau sous différentes formes. Dans les conditions habituelles, c'est-à-dire pour un *p*H variant entre 4,5 et 9, le fer soluble présent est généralement à l'état ferreux. Si le milieu est réducteur comme dans beaucoup d'eaux souterraines, le fer ferreux peut atteindre des teneurs élevées. En l'absence de complexes, le fer ferrique n'est soluble d'une façon significative qu'à des *p*H inférieurs à 3. Pratiquement, les eaux superficielles n'en contiennent que très peu, rarement plus de 1 mg/L. En effet, sous l'action de l'air, ou par addition d'un oxydant, le fer est oxydé à l'état ferrique et peut être hydrolysé pour donner un hydroxyde de fer insoluble. C'est généralement sous cette forme qu'on le trouve dans les échantillons, sauf si le prélèvement a été pratiqué de telle façon qu'il ne se produise aucune oxydation.

Schématiquement, le fer « total » peut se retrouver à l'état de :

– fer en suspension (à l'état ferrique principalement),
– fer dissous { fer à l'état ferrique solubilisé, par complexation, / fer à l'état ferreux.

Les résultats du dosage seront donc très influencés par les conditions de prélèvement et de stockage de l'échantillon. Il est recommandé de rincer les flacons soigneusement à l'acide chlorhydrique puis à l'eau déionisée. Si des récipients en plastique sont utilisés, se méfier des particules de fer colloïdal qui adhèrent aux parois. L'oxydation à l'air étant rapide, les dosages de fer dissous sont à pratiquer immédiatement ou très rapidement après le prélèvement. Si le fer ferrique dissous et le fer ferreux (cas des eaux à *p*H inférieur à 3) doivent être différenciés, des précautions spéciales sont nécessaires lors du prélèvement. Il est ainsi recommandé de filtrer sous atmosphère inerte et d'éviter l'oxydation en remplissant le flacon complètement et en le tenant hermétiquement fermé. Si une détermination précise du fer total est désirée, effectuer un prélèvement séparé avec addition de quelques millilitres d'acide nitrique. Le dosage du fer dissous se fait sur l'échantillon décanté et filtré sur papier très fin, immédiatement après le prélèvement. Le dosage du fer total, sur l'échantillon standard, se pratique sur une partie aliquote, après homogénéisation.

L'eau déionisée doit être exempte de fer et la teneur en fer de tous les réactifs doit être très faible. Il est recommandé de conserver les réactifs dans des flacons de verre bouchés émeri.

Les méthodes par spectrométrie d'absorption moléculaire, par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme ou avec four graphite et par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma ont une sensibilité et une limite de détection voisines.

7.26.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Après oxydation en milieu acide, le fer est réduit à l'état ferreux et dosé par spectrométrie en utilisant la coloration rouge donnée par les sels ferreux avec la phénanthroline 1,10.

Se reporter au § A-7.1.1.

☐ Réactifs

Préparer tous les réactifs à partir d'eau déionisée exempte de toute trace de fer.

– Acide chlorhydrique (d = 1,25).

– Solution d'acétate d'ammonium :

acétate d'ammonium		40 g
acide acétique cristallisable		50 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 100 g/L.

À renouveler toutes les semaines.

– Solution de peroxodisulfate de potassium à 40 g/L.

À conserver dans un flacon en verre brun.

– Solution de chlorhydrate de phénanthroline 1,10 à 0,5 %.

Conserver cette solution au réfrigérateur, la renouveler dès l'apparition d'une coloration.

– Solution mère étalon de fer à 1 g/L.

Peser exactement 100 mg de fil de fer non oxydé, introduire dans une fiole conique, ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique et environ 40 mL d'eau déionisée. Chauffer jusqu'à ébullition pour obtenir la dissolution complète. Laisser refroidir, transvaser dans une fiole jaugée de 100 mL. Ajouter les eaux de rinçage de la fiole conique, ajuster le volume.

– Solution fille étalon de fer à 10 mg/L (à préparer au moment de l'utilisation).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Introduire 50 mL d'échantillon acidifié dans une fiole conique, ajouter 5 mL de solution de peroxodisulfate de potassium, porter à ébullition pendant 40 min environ. Après refroidissement, ajuster le volume à 50 mL dans une fiole jaugée. Ajouter 2 mL de solution d'acétate d'ammonium. Mélanger, vérifier que le *p*H est voisin de 4,5 (compris entre 3,5 et 5,5). Ajouter 2 mL de solution de phénanthroline 1,10. Préparer un témoin avec 50 mL d'eau déionisée traitée dans les mêmes conditions. Laisser à l'obscurité pendant 15 min. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 510 nm. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin.

Remarques

– La méthode est applicable pour des concentrations comprises entre 0,010 et 5 mg/L.

– Pour la détermination du fer total, acidifier l'échantillon à *p*H 1 (1 mL d'acide sulfurique pour 100 mL).

– Pour différencier le fer dissous du fer non dissous, filtrer l'échantillon au moment du prélèvement sur une membrane filtrante 0,45 µm, acidifier ensuite.

– Pour doser séparément le fer (II) et le fer (III), acidifier l'échantillon à *p*H 1 immédiatement au moment du prélèvement. Si une filtration est nécessaire, filtrer l'échantillon sous atmosphère inerte, remplir le flacon jusqu'au débordement, l'acidifier ensuite à *p*H 1. Fermer immédiatement le flacon avec un bouchon rodé.

– Si la solution obtenue après oxydation est trouble, la filtrer sur membrane 0,45 µm.

– Pour le dosage du fer (II), opérer de la manière suivante : remplir complètement avec l'eau à analyser un flacon de 100 mL contenant 5 mL de tampon acétate et 10 mL de solution de phénanthroline. Boucher soigneusement sans laisser d'air. Faire une mesure spectrométrique au laboratoire en l'état, pratiquer les corrections de volume appropriées liées au flaconnage.

– Les interférences dues au cuivre, cobalt, chrome, zinc pour des concentrations 10 fois supérieures à celle du fer et du nickel pour une concentration supérieure à 2 mg/L, sont éliminées au *p*H d'application de la méthode.

Les ortho- et polyphosphates interfèrent à une concentration supérieure à 10 fois celle du fer.

Le bismuth, l'argent, le cadmium et le mercure forment un précipité avec la phénanthroline 1,10.

Si l'élimination des interférences est indispensable, effectuer une extraction du fer par l'éther di-isopropylique. Procéder de la façon suivante : introduire 10 mL d'eau à analyser dans une ampoule à décanter de 125 mL ; ajouter 15 mL d'acide chlorhydrique. Laisser refroidir puis extraire successivement avec 25 mL, et 2 fois 10 mL d'éther di-isopropylique. Réunir les phases éthérées et extraire deux fois respectivement avec 25 mL puis 10 mL d'eau. Réunir les phases aqueuses, les placer au bain-marie pour éliminer les traces d'éther. Après refroidissement, procéder au dosage du fer selon la méthode ci-dessus.

7.26.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de fer à 1 g/L. Se reporter au § A-7.26.4.

– Solution fille étalon à 10 mg/L. S'assurer que le pH est à 2,5.

☐ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L). S'assurer que le pH est à 2,5.

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 248,3 nm.

Remarque

La limite de détection est de 20 µg/L.

7.26.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Solutions mère et fille étalon de fer à 1 g/L. Se reporter au § A-7.26.2.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions dans l'eau ultrapure couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L). S'assurer que le pH est à 2,5.

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher entre 100 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à une température comprise entre 1 000 °C (sans modificateur) et 1 400 °C (avec modificateur) pendant 40 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 1900 °C (sans modificateur) à 2 400 °C (avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 248,3 nm.

Remarque

La limite de détection est de 1 µg/L.

7.26.4 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme après complexation et extraction

■ Principe

Le fer complexé par le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique-1 (APDC) est extrait à *p*H 2,5 par la méthylisobutylcétone puis dosé par spectrométrie d'absorption atomique directement sur la solution obtenue.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

– Ampoules à décantation de 250 mL équipées d'un robinet en polytétrafluoréthylène.
– Centrifugeuse.
– *p*H-mètre.

☐ Réactifs

– Utiliser de l'eau de qualité ultra-pure (type Milli Q ou ELGA).
– Acide nitrique (*d* = 1,4).
– Solution d'hydroxyde de sodium à 100 g/L.
– Solution du sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique (APDC) à 20 g/L.

Si la solution est colorée, ajuster le *p*H à 2,5 et procéder à des extractions par la méthylisobutylcétone. À préparer chaque jour.

– Méthylisobutylcétone.
– Solution mère étalon de fer à 1 g/L :

fil de fer non oxydé nettoyé à la toile d'émeri et au papier filtre		1 g
acide nitrique	*q.s.p.* dissolution	environ 60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre le fer dans l'acide nitrique à chaud. Après dissolution, laisser refroidir, transvaser dans une fiole jaugée de 1 litre. Ajuster le volume avec de l'eau ultra-pure.

– Solution fille étalon de fer à 10 mg/L.

Diluer au 1/100 la solution mère.

– Solution fille étalon de fer à 0,4 mg/L.

Diluer au 1/25 la solution précédente après avoir ajouté 1 mL d'acide nitrique.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 100 µg/L).

■ Mode opératoire

Introduire, dans une ampoule à décanter de 250 mL, 100 mL d'échantillon d'eau acidifié au moment du prélèvement. Ajouter 2 à 3 gouttes d'indicateur au bleu de bromophénol, ajuster le *p*H de la solution avec de l'acide nitrique ou de l'hydroxyde de sodium jusqu'à obtention d'une coloration bleue persistante. Le *p*H est alors compris entre 2,3 et 2,5. Ajouter 10 mL de méthylisobutylcétone. Agiter vigoureusement, laisser décanter une heure au moins à l'abri de la lumière ou plusieurs heures à 4 °C pour éviter la centrifugation. Recueillir la phase organique, la centrifuger pour éliminer les traces d'eau. Nébuliser la solution de méthylisobutylcétone en intercalant de la méthylisobutylcétone pure entre chaque échantillon. Utiliser une

flamme air-acétylène. Intercaler l'extraction d'une solution d'étalonnage tous les cinq échantillons. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 248,3 nm.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgrammes de fer par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 1 µg/L.

– Cette technique est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques.

– Des teneurs en chrome (IV), manganèse, cobalt, nickel, cuivre, zinc, argent, cadmium, plomb inférieures à 5 mg/L n'interfèrent pas.

– Pour les eaux dont la teneur en fer est comprise entre 0,1 et 10 mg, effectuer la détermination directement sans extraction préalable avec une flamme air-acétylène oxydante.

– Respecter le même temps de décantation de la méthylisobutylacétone pour la gamme et l'échantillon.

7.26.5 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Principe, matériel spécial

Se reporter au A-7.1.6.

Réactifs

– Solution mère étalon de fer à 100 mg/L :

fil de fer non oxydé nettoyé à la toile d'émeri et au papier filtre		100 mg
acide chlorhydrique dilué au demi		10 mL
acide nitrique concentré		8 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le fer dans un mélange de 10 mL d'acide chlorhydrique dilué au demi et 3 mL d'acide nitrique concentré. Après dissolution, ajouter 5 mL d'acide nitrique concentré et ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 259,94 nm en ICP ou sur l'isotope 56 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et 0,5 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF T90-017 (juin 1982) Essais des eaux – Dosage du fer – Méthode spectrométrique à la phénantroline 1-10.

FD T 90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 8 éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.27 Fluorure et fluor (limite de qualité « Eau potable »)

Les méthodes spectrométriques d'absorption moléculaire sont applicables pour des teneurs de l'ordre de 100 µg/L. Il est certes possible de pratiquer le dosage directement sur l'échantillon mais de nombreux éléments comme les chlorures, le fer, les phosphates, les sulfates, etc. étant susceptibles de conduire à des interférences, il est préférable d'effectuer une distillation préalable, comme dans le cas des eaux colorées ou troubles. La méthode potentiométrique est d'une grande facilité d'emploi et autorise des mesures directes. Elle peut s'utiliser dans une échelle étendue, de 0,1 à 1 000 mg/L usuellement de 0,1 à 10 mg/L.

Pour éviter les contaminations par des produits fluorés, utiliser de préférence pour les prélèvements des flacons neufs en polyéthylène.

7.27.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au zirconium et ériochrome-cyanine R

Technique sans distillation

■ Principe

Les ions Fluorure forment avec le zirconium et en présence d'ériochrome-cyanine R, un complexe susceptible d'un dosage spectrométrique indirect.

Se reporter au § A-7.1.1.

☐ **Réactifs**

– Eau ultra-pure, à conserver dans des flacons en polyéthylène.

– Acide chlorhydrique (d = 1,19).

– Solution aqueuse d'ériochrome-cyanine R à 1 g/L dans l'eau ultra-pure.

Cette solution est à conserver en flacons de verre brun et doit être renouvelée tous les mois.

– Solution de zirconium :

oxychlorure de zirconium ($ZrOCl_2$, 8 H_2O)		0,265 g
eau ultra-pure		50 mL
acide chlorhydrique (d = 1,19)		700 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre l'oxychlorure de zirconium dans 50 mL d'eau ultra-pure. Ajouter l'acide chlorhydrique et ajuster le volume à 1 000 mL.

– Solution de référence :

solution d'ériochrome-cyanine R		10 mL
acide chlorhydrique		5 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution mère étalon de fluor à 100 mg

fluorure de sodium		221 mg
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Cette solution est à conserver dans un flacon en polytétrafluoréthylène et à renouveler tous les deux mois.

– Solution fille étalon à 2 mg/L, à préparer au moment de l'emploi.

Diluer 20 mL de la solution mère à 1 000 mL avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 10 mL, introduire successivement :

Numéro des fioles		T	I	II	III
Solution étalon de fluor à 2 mg/L (mL)		0	1	2	3
Solution de zirconium (mL)		1	1	1	1
Solution d'ériochrome-cyanine R (mL)		1	1	1	1
Eau ultra-pure (mL)	*q.s.p.*	10	10	10	10
Correspondance en mg/L de fluor		0	0,2	0,4	0,6

Agiter. Laisser reposer 10 à 15 minutes. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur de 540 nm. Construire la courbe d'étalonnage, qui doit être refaite tous les jours.

■ Mode opératoire

Introduire, dans une fiole jaugée de 10 mL, 5 mL d'eau à analyser. Préparer un témoin avec 5 mL d'eau ultra-pure. Ajouter dans chaque fiole :

– solution de zirconium	1 mL

– solution d'ériochrome-cyanine R		1 mL
– eau ultra-pure	*q.s.p.*	10 mL

Agiter puis laisser reposer 10 à 15 minutes. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 540 nm, et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 5 mL, le chiffre lu sur la courbe multiplié par 2 donne la teneur en fluor, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– Cette méthode doit être utilisée en l'absence des ions suivants : SO_4^{2-}, Ca^{2+}, Fe^{3+}, PO_4^{3-}, Al^{3+}. Le chlore libre peut être réduit par les arsénites.

– Si l'alcalinité est trop forte, neutraliser avant d'effectuer le dosage.

– La vaisselle lavée avec les détergents modernes et insuffisamment rincée est une source d'erreur.

Technique avec distillation

Cette méthode doit être appliquée en présence des ions gênants signalés plus haut.

■ Principe

Une distillation en présence d'acide fort, à température d'ébullition élevée, permet de séparer le fluor transformé en acide hydrofluorique ou fluorosilicique des éléments non volatils. La distillation est effectuée à température contrôlée.

□ Réactifs

– Même réactifs que précédemment.

– Acide perchlorique (*d* = 1,61).

– Solution d'hydroxyde de sodium *N* dans l'eau ultra-pure.

– Solution de phénolphtaléine à 1 g/L dans l'éthanol à 95 %.

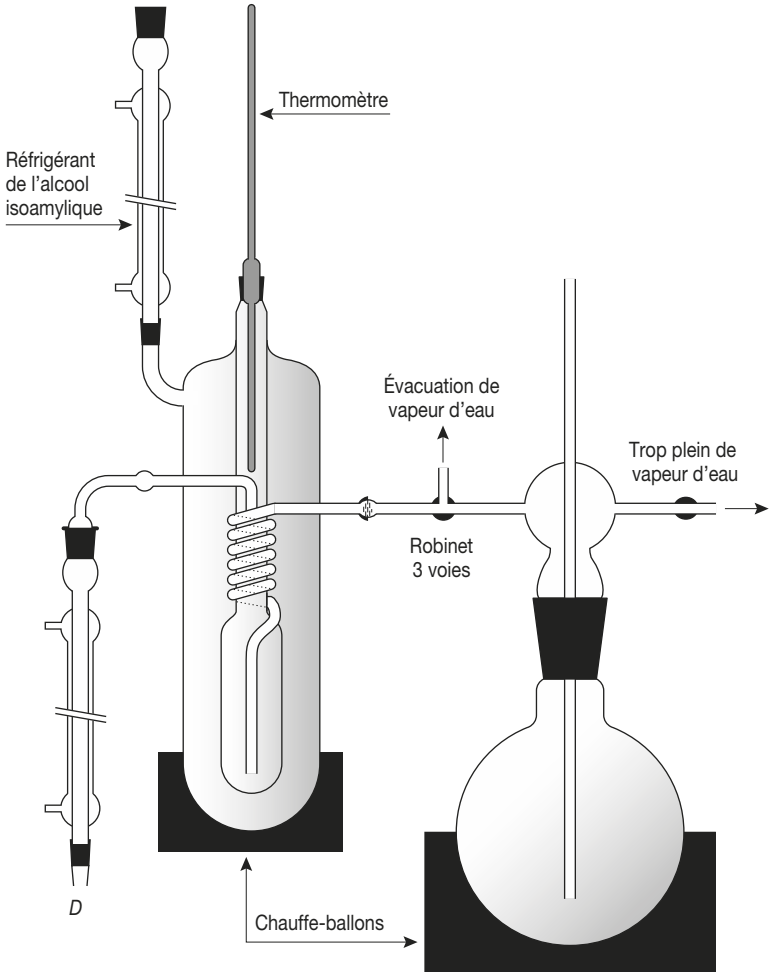
– Alcool isoamylique.

– Laine de verre, lavée à chaud avec de l'acide chlorhydrique, de l'acide sulfurique et de l'acide nitrique, rincée à l'eau et séchée 2 heures à 105 °C.

□ Matériel spécial

– Appareil à distiller à température constante (*voir* schéma page suivante).

– se reporter au § A-7.1.1.



Appareil à distiller

Mode opératoire

Les conditions d'application de la méthode sont telles que le volume de la prise d'essai est fonction de la teneur présumée de l'eau en ion fluorure :

– 1 000 mL si la teneur est comprise entre 20 et 100 µg/L ;
– 500 mL si la teneur est comprise entre 100 et 400 µg/L ;
– 100 mL si la teneur est comprise entre 400 et 3 000 µg/L ;
– 15 mL si la teneur est supérieure à 3 000 µg/L.

Dans la plupart des cas, le volume de la prise d'essai est supérieur à 15 mL. Procéder alors à une concentration préalable. Rendre la prise d'essai alcaline à la phénolphtaléine en ajoutant de l'hydroxyde de sodium. Évaporer lentement sur une plaque chauffante, dans une capsule en platine ou en nickel. Réduire le volume à 15 mL environ.

Laisser refroidir.

Verser cette solution concentrée ou la prise d'essai dans le ballon de l'appareil à distiller. Acidifier légèrement en ajoutant goutte à goutte de l'acide perchlorique, jusqu'au virage de l'indicateur. Ajouter 1 g de laine de verre et 25 mL d'acide perchlorique. Chauffer l'enceinte remplie à mi-hauteur d'alcool isoamylique. Quand la température en haut du ballon atteint 127 °C, régler l'admission de la vapeur de façon à obtenir un débit de 4 mL/min. Recueillir le distillat dans des fioles jaugées de 50 ou 100 mL placées dans un bain de glace en procédant de la façon suivante :

– pour les teneurs comprises entre 20 et 100 µg/L, recueillir les 50 premiers millilitres ;

– pour les teneurs supérieures à 100 µg/L, recueillir le distillat par fraction de 100 mL, jusqu'à ce que le distillat obtenu soit exempt de fluor.

Sur chaque fraction recueillie, prélever la quantité de distillat correspondant à une masse de fluor comprise entre 1 et 6 µg. Verser dans une fiole jaugée de 10 mL et doser le fluor par la méthode sans distillation.

Expression des résultats

Additionner les différentes quantités de fluor présentes dans chaque fraction de distillat. Exprimer les résultats en milligrammes de fluor par litre sans oublier de tenir compte du volume de la prise d'essai initiale.

Remarques

– La limite de détection est de 20 µg/L.

– Pour le dosage proprement dit, l'erreur maximale observée est de ± 3 % pour une teneur en fluor voisine de 5 mg/L et de ± 5 % pour une teneur en fluor voisine de 0,1 mg/L.

– Il est souhaitable de s'assurer de l'absence, dans le distillat, des ions gênants qui ont été en principe éliminés : SO_4^{2-}, Ca^{2+}, PO_4^{3-}, Al^{3+}, Fe^{3+}.

– Si le distillat est fortement acide, ramener le *p*H à 7 environ avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 *N*.

– L'ion Zr^{4+} partiellement entraîné, peut gêner le dosage.

– Si l'eau contient des matières organiques, procéder avant la distillation à une minéralisation en milieu alcalin : rendre alcaline à la phénolphtaléine la prise d'essai avec de l'hydroxyde de sodium *N*. Évaporer à siccité dans une capsule de platine. Ajouter 3 g de carbonate de sodium anhydre. Chauffer jusqu'à fusion, pendant 30 minutes. Laisser refroidir. Reprendre par 20 mL d'eau ultra-pure. Faire bouillir une heure. Filtrer sur filtre rapide et laver avec une solution de carbonate de sodium à 100 g/L. Amener le volume du filtrat et des eaux de lavage à 15 mL par évaporation ou en complétant par la solution de carbonate de sodium et pratiquer la mesure comme ci-dessus.

– Si la teneur en ions Cl^- dépasse 500 mg/L, ajouter dans le ballon 0,50 g de sulfate d'argent.

– Une température trop haute, une distillation trop rapide, une surchauffe sont des risques d'erreurs.

– Il existe dans le commerce des appareils à double enveloppe permettant de réaliser une distillation à température constante.

7.27.2 Méthode par spectrométrie d'absorbtion moléculaire à l'alizarine et au nitrate de lanthane

■ Principe

Le fluor donne avec l'alizarine complexon et le nitrate de lanthane un complexe ternaire susceptible d'un dosage spectrométrique.

Se reporter au § A-7.1.1.

☐ Matériel spécial

– Appareil à distiller (suivant schéma précédent).

– Se reporter au § A-7.1.1.

☐ Réactifs

– Eau ultra-pure conservée dans des flacons en polyéthylène.

– Acide perchlorique (*d* = 1,615).

– Solution d'hydroxyde de sodium, environ *N* (40 g/L) préparée avec de l'eau ultra-pure.

– Solution alcoolique de phénolphtaléine à 0,1 %.

– Alcool isoamylique (distillation 129-131 °C).

– Solution d'alizarine complexon 0,0167 *M*.

Dissoudre 0,643 g d'alizarine dans 50 mL d'eau ultra-pure, puis ajouter de l'ammoniaque jusqu'à *p*H 7. Ce réactif est à renouveler après 15 jours.

– Solution de nitrate de lanthane 0,0167 *M* :

nitrate de lanthane		3,616 g
eau ultra-pure		500 mL

– Solution tampon à *p*H 4 :

acétate de sodium trihydraté		60 g
eau ultra-pure		500 mL
acide acétique		115 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Réactif :

acétone		660 mL
eau ultra-pure		100 mL
solution tampon à *p*H 4		136 mL
solution d'alizarine 0,0167 *M*		20 mL
solution de nitrate de lanthane 0,0167 *M*		20 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Ce réactif est à renouveler après 5 jours.

– Solution mère étalon de fluor à 100 mg/L :

fluorure de sodium		221 mg
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Cette solution est à conserver en flacon en polytétrafluoréthylène et à renouveler tous les deux mois.

– Solution fille étalon à 5 mg/L, à préparer au moment de l'emploi. Diluer 50 mL de la solution mère à 1 000 mL avec de l'eau ultra-pure.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 50 mL, introduire successivement :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon de fluor à 5 mg/L (mL)	0	1	2	3	4	5
Réactif (mL)	15	15	15	15	15	15
Eau ultra-pure (mL) *q.s.p.*	50	50	50	50	50	50
Correspondance en µg de fluor	0	5	10	15	20	25

Laisser reposer 20 minutes. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 620 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Les conditions d'application de la méthode font que le volume de la prise d'essai est fonction de la teneur présumée de l'eau en ion fluorure :

– 1 000 mL si la teneur est comprise entre 20 et 100 µg/L ;
– 500 mL si la teneur est comprise entre 100 et 400 µg/L ;
– 100 mL si la teneur est comprise entre 400 et 3 000 µg/L ;
– 15 mL pour les teneurs supérieures à 3 000 µg/L.

Dans le cas le plus fréquent, où le volume de la prise d'essai est supérieur à 15 mL, il est donc nécessaire de procéder à une concentration préalable. Rendre la prise d'essai alcaline à la phénolphtaléine, en ajoutant de l'hydroxyde de sodium. Évaporer lentement dans une capsule de platine ou de nickel, de façon à réduire le volume à 15 mL.

Laisser refroidir.

Verser la prise d'essai ou la solution concentrée dans le ballon de l'appareil à distiller. Acidifier légèrement par de l'acide perchlorique ajouté goutte à goutte jusqu'au virage de l'indicateur. Ajouter environ 1 g de laine de verre et 25 mL d'acide perchlorique. Chauffer l'enceinte remplie à mi-hauteur d'alcool isoamylique. Quand la température atteint 127 °C en haut du ballon, régler l'admission de vapeur avec un débit de 4 mL/min environ. Recueillir le distillat dans des fioles jaugées de 50 ou 100 mL, placées dans un bain de glace :

– si la teneur en fluor est comprise entre 20 et 100 µg/L, recueillir les 50 premiers millilitres dans une fiole jaugée de 50 mL.

– si la teneur en fluor est supérieure à 100 µg/L, recueillir le distillat par fractions de 100 mL, jusqu'à obtention d'un distillat exempt de fluor. Mettre dans des fioles jaugées de 50 mL la quantité de distillat ; prélevée sur chaque fraction, correspondant à une masse de fluor comprise entre 1 et 25 µg. Procéder ensuite de la même manière que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 620 nm, et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Additionner les différentes quantités de fluor présentes dans chaque fraction de distillat. Exprimer les résultats en milligrammes de fluor par litre, sans oublier de tenir compte du volume de la prise d'essai initiale.

Remarques

– La méthode est applicable aux teneurs supérieures à 50 µg/L.

– L'erreur maximale observée varie de ± 15 % pour une masse de fluor voisine de 1 µg à ± 5 % si la masse de fluor est voisine de 5 µg.

– Si la teneur en Cl^- dépasse 500 mg/L ajouter dans le ballon 0,50 g de sulfate d'argent.

– Vérifier l'absence des ions chlorures, sulfates, Al^{3+}, Fe^{3+} qui sont en principe éliminés par la distillation et qui pourraient gêner le dosage.

7.27.3 Méthode par flux continu

Principe

Les ions Fluorure séparés par distillation à 127 °C en présence d'un acide fort forment sur le chélate cérium-alizarine complexon en milieu tamponné *p*H 4,3 un complexe de coloration bleue susceptible d'un dosage spectrométrique.

Se reporter au § A-7.1.2.

Matériel spécial

– Bain-marie réglé à 127 °C équipé d'un séparateur de phase.

– Se reporter au § A-7.1.2.

Réactifs

– Solution tampon *p*H 4 :

acétate de sodium		180 g
acide acétique		345 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Laque alizarine-cérium :

solution aqueuse de nitrate de cérium à 0,036 %	450 mL
solution aqueuse d'alizarine complexon à 0,032 %	450 mL
solution tampon *p*H 4	25 mL

Au moment de l'emploi, préparer la laque en diluant 3 volumes de solution ci-dessus avec un volume d'eau ultra-pure. Le réactif est stable six heures.

– Solution d'acide sulfurique 3 *N*.

– Solution d'acétone à 10 %.

Préparer la solution la veille pour éliminer les microbulles ou passer sur filtre 0,45 µm.

– Solution étalon de fluor à 0,1 g/L :

fluorure de sodium		0,221 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon une série de dilutions comprises entre 0,1 et 2 mg/L de fluor. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation page suivante. La cadence des déterminations est de 15 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 180 secondes pour des prises d'échantillon de 60 secondes. Faire fonctionner l'appareillage avec des réactifs et de l'eau déionisée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures à 605 nm.

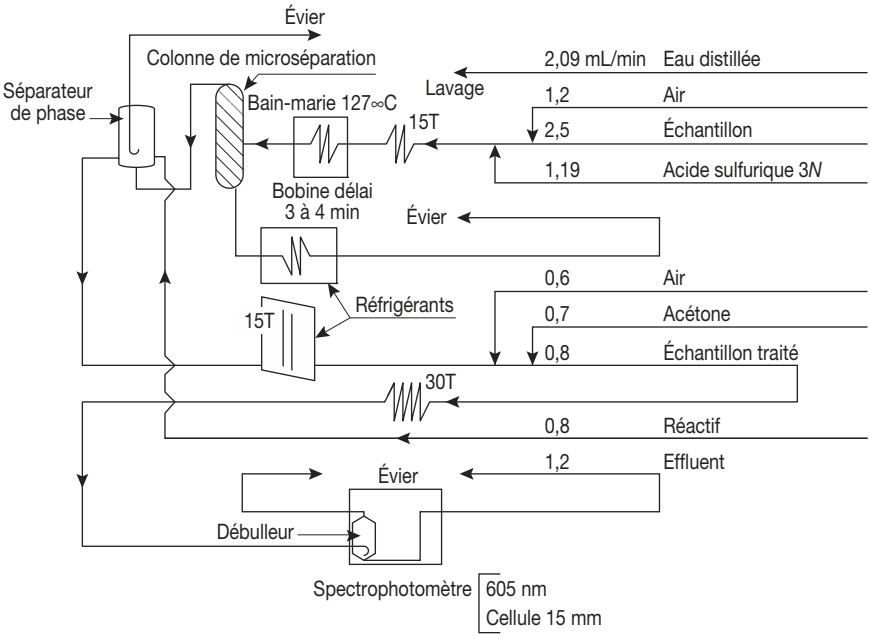


Schéma d'utilisation

Remarques

– La solution d'acétone joue le rôle d'anti-mousse.

– La préparation de la laque demande beaucoup de précaution, sa conservation est aléatoire, un précipité se forme après 6 heures.

– Les chlorures interfèrent pour une concentration de 500 mg/L.

7.27.4 Méthode potentiométrique

Principe

La mesure de l'activité ionique du fluor dans des conditions expérimentales bien définies de concentration en ions, de *p*H et de complexant permet de déterminer la concentration de cet élément dans l'eau à l'aide d'une électrode spécifique.

Se reporter au § A-7.1.7.

☐ **Matériel spécial**

Potentiomètre équipé d'une électrode spécifique et d'une électrode de référence à cristal de fluorure de lanthane.

Se reporter au § A-7.1.7.

☐ **Réactifs**

– Acide chlorhydrique à 10 %.
– Solution d'hydroxyde de sodium environ *N*.
– Solution concentrée d'hydroxyde de sodium.
– Solution alcoolique de bleu de bromothymol :

bleu de bromothymol		0,1 g
éthanol	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de sel disodique de l'acide cyclohexylène dinitrilotétraacétique (CyDTA) :

acide cyclohexylène dinitrilotétraacétique	36 g
solution d'hydroxyde de sodium *N*	200 mL

– Solution tampon :

acide acétique à 99 %	57 mL
chlorure de sodium	58 g
solution CyDTA	20 mL

solution concentrée d'hydroxyde de sodium.

Verser dans 500 mL d'eau déionisée ou ultra-pure, 57 mL d'acide acétique puis ajouter 58 g de chlorure de sodium. Après dissolution, ajouter 20 mL de solution CyDTA. Ajuster le *p*H à 5-5,5 avec la solution concentrée d'hydroxyde de sodium, compléter le volume à 1 L avec de l'eau déionisée ou ultra-pure.

Conserver la solution en flacon de polyéthylène.

– Solution mère étalon d'ion fluorure à 1 g/L :

fluorure de sodium déshydraté		0,221 g
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

À conserver dans un flacon en polytétrafluoroéthylène et à renouveler tous les deux mois.

– Solution fille étalon de fluor à 100 mg/L.

Diluer au 1/10 la solution mère étalon.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, préparer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV
Solution étalon à 100 mg/L (mL)	0	0,5	1	5	10
Eau ultra-pure (mL)	100	99,5	99	95	90
Concentration en mg/L de fluor	0	0,5	1	5	10

Introduire dans une série de béchers de 150 mL, contenant chacun un barreau magnétique, 50 mL de chaque dilution, ajouter 50 mL de solution tampon. Agiter en plaçant les béchers sur un agitateur magnétique. Au bout de 3 minutes, en commençant par les solutions les plus diluées pour éviter l'effet de mémoire, effectuer la lecture du potentiel en millivolts. Rincer et essuyer la cellule entre chaque mesure. Tracer la courbe d'étalonnage. De préférence, procéder aux mesures à 25 °C, la pente de la courbe d'étalonnage varie avec la température d'environ 1 millivolt par 5 °C.

Mode opératoire

À un volume de 50 mL d'eau, ajouter une goutte de solution de bleu de bromothymol. Neutraliser avec l'acide chlorhydrique ou l'hydroxyde de sodium jusqu'à virage de l'indicateur. Introduire 50 mL de solution tampon. Immerger les électrodes. Agiter au moyen d'un agitateur magnétique et faire la mesure au bout de 3 minutes, ou après stabilisation. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne la teneur en fluor exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 20 µg/L.

– La précision de la méthode est de l'ordre de ± 5 %.

– Les ions lanthane et hydroxyles interfèrent. Il est nécessaire que le *p*H de l'eau soit inférieur à 8,5. Pratiquement opérer entre *p*H 4 et *p*H 8.

– L'emploi de la solution tampon permet d'éliminer, en principe, l'action de l'activité ionique liée aux variations de la composition des eaux (OH^-, H^+, SO_4^{2-}, K^+, etc.). Il y a formation de complexes stables entre les ions fluorures et les ions Al^{3+}, Fe^{3+}, et Si^{4+} qui sont évités par l'utilisation du tampon au CyDTA jusqu'à 5 mg/L pour Al^{3+}, et 10 mg/L pour Fe^{3+}. La solution tampon crée une force ionique constante telle qu'elle masque l'effet ionique des ions autres que F^- qui pourraient interférer (OH^-, H^+, SO_4^{2-}, K^+...). Corrigeant l'effet de matrice, elle permet de s'affranchir des interférences ioniques ; la seule activité ionique variable est donc celle de l'ion F^- qui est alors mesurable. Elle joue également un rôle d'effet tampon de *p*H.

– Une distillation en milieu acide peut être nécessaire en présence de fortes concentrations de Al^{3+}.

– L'ion SiF_6^{2-} des fluorosilicates n'étant hydrolysé en F^- qu'à *p*H > 8,4, il convient d'alcaliniser l'échantillon par de l'ammoniaque puis de ramener le *p*H à environ 5,5 avec un tampon acétate d'ammonium avant d'effectuer le dosage.

– Aux concentrations généralement rencontrées dans les eaux naturelles, les ions Br^-, Cl^-, I^-, NO_3^-, SO_4^{2-}, K^+, Na^+, Ca^{2+} et Mg^{2+} n'interfèrent pas.

– Le CyDTA peut être remplacé par du citrate de sodium (0,30 g) qui permet d'éviter que des ions fluor soient complexés avec des ions tels que aluminium, fer et silice.

– Dans le cas de l'emploi de cette méthode pour des rejets industriels, il est recommandé de pratiquer des dilutions préalables. Pour ces mêmes rejets la mesure ne permet pas la détermination du fluor existant à l'état de fluorosilicate. Dans ce cas, alcaliniser le prélèvement par l'ammoniaque, puis réajuster le *p*H à l'aide d'un tampon acétate d'ammonium-acide acétique (*p*H 5,7).

7.27.5 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NFT 90-004 (août 2002) Qualité de l'eau – Dosage de l'ion fluorure – Méthode potentiométrique (indice de classement T 90-004).

AFNOR NF EN ISO 10304-1 (juillet 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthodes applicables pour les eaux faiblement contaminées.

7.28 Gallium

7.28.1 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP/MS)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6

□ **Réactif**

– Préparer une solution étalon mère à 1 000 mg/L dans l'eau ultra-pure.

– Se reporter au § 7.1.6.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon mère quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures sur les isotopes 69 ou 71.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 0,3 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.29 Germanium

7.29.1 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP/MS)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactif**

– Préparer une solution étalon mère à 1 000 mg/L dans l'eau ultra-pure.

– Se reporter au § 7.1.6.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon mère quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures sur l'isotope 74.

> **Remarque**
> La limite de détection est de 0,3 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.30 Indium

7.30.1 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP/MS)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactif**

– Préparer une solution étalon mère à 1 000 mg/L dans l'eau ultra-pure.

– Se reporter au § 7.1.6.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon mère quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures sur l'isotope 115.

Remarque

La limite de détection est de 0,1 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.31 Iodure et Iode

L'iode libre (ou di-iode) est rarement présent dans les eaux naturelles compte tenu de son caractère oxydant et de la présence de nombreux réducteurs dans ces eaux. Toutefois, l'iode peut être présent sous forme d'ions (iodures, et éventuellement iodates et periodates) ou encore sous forme organique.

La méthode spectrométrique d'absorption moléculaire par réduction catalytique du cérium, permet de doser des concentrations de 5 à 100 µg/L. La méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma associé à un spectromètre de masse, beaucoup plus sensible, a une limite de détection de l'ordre de 0,05 à 0,1 µg/L.

7.31.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

Principe

Au cours de la réduction des sels cériques de couleur jaune en sels céreux incolores par l'acide arsénieux, l'iode agit comme catalyseur. La réaction est accélérée proportionnellement à la teneur en iode.

Se reporter au § A-7.1.1.

Matériel spécial

– Tubes de Nessler jaugés à 20 mL.

– Bain thermostatique à 30 °C ± 0,1 °C.

Se reporter au § A-7.1.1.

Réactifs

– Solution d'arsénite de sodium 0,1 *N* :

anhydride arsénieux		4,95 g
solution d'hydroxyde de sodium 2 *N* environ		50 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre l'anhydride arsénieux dans la solution d'hydroxyde de sodium en chauffant légèrement au bain-marie. Après dissolution, laisser refroidir et compléter à un litre avec de l'eau permutée.

– Solution d'hydroxyde de potassium, environ *N*.

– Solution de sulfate de cérium 0,04 *N* dans l'acide sulfurique 3,6 *N* :

sulfate de cérium ammoniacal ($Ce(NH_4)_4$, $(SO_4)_4$, 2 H_2O)		25,2 g
acide sulfurique (*d* = 1,83)		100 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre le sulfate de cérium dans un mélange de 100 mL d'acide sulfurique et 100 mL d'eau permutée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau permutée. Filtrer. Cette solution est stable.

– Solution de chlorure de sodium à 10 %.

– Solution mère étalon d'iode à 1 g/L :

iodure de potassium		1,31 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon d'iode à 10 mg/L.

Amener 10 mL de la solution précédente à 1 000 mL avec de l'eau déionisée.

– Solution fille étalon d'iode à 0,1 mg/L.

Amener 10 mL de la solution précédente à 1 000 mL avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de tubes de Nessler numérotés, introduire successivement :

Numéro des tubes	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution étalon à 0,1 mg/L (mL)	0	1	2	3	4	5	6
Eau déionisée (mL)	20	19	18	17	16	15	14
Solution de chlorure de sodium (mL)	1	1	1	1	1	1	1
Solution d'arsénite de sodium (mL)	2	2	2	2	2	2	2
Correspondance en microgramme d'iode dans la prise d'essai	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
Agiter et placer les tubes au thermostat à 30 °C quelques minutes							
Solution de sulfate de cérium (mL)	2	2	2	2	2	2	2

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm 20 minutes exatement après avoir ajouté la solution de sulfate de cérium, les tubes ayant été maintenus dans le bain thermostatique pendant ce temps-là. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Prélever 20 mL d'eau, ou si la teneur en iode est élevée 10 et même 5 mL. Opérer ensuite comme pour la courbe d'étalonnage. Effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La courbe donne la masse d'iode contenue dans la prise d'essai.

Remarques

– On peut mesurer directement les ions cériques restants en ajoutant du sulfate ferreux ammoniacal. Il se forme alors une quantité équivalente d'ions ferriques qui, par addition de thiocyanate de potassium donnent du thiocyanate ferrique dont l'intensité de coloration peut servir au dosage spectrométrique. Pour cela, à la fin du dosage, après passage au bain-marie thermostaté, et au lieu de lire la coloration jaune, ajouter tout de suite 1 mL de solution extemporanée de sulfate ferreux ammoniacal, Fe $(NH_4)_2$, $(SO_4)_2$, 6 H_2O dissous dans 100 mL d'eau contenant 0,6 mL de H_2SO_4 puis après agitation, 1 mL de solution de thiocyanate de potassium à 4 %. Après 1 heure au bain-marie à 30 °C, lire la coloration rouge au spectromètre à 525 nm, dans les mêmes conditions de température.

– La réaction est donnée par l'iode libre et les iodures. L'ion iodate est environ 10 fois moins actif dans les conditions du dosage. Toutefois, les periodates, iodates et composés organiques de l'iode sont transformés en iodure par évaporation en milieu alcalin et calcination au rouge sombre.

– L'osmium et le mercure interfèrent ainsi que les réducteurs, mais ceux habituellement rencontrés dans l'eau : nitrites, fer ferreux, ne gênent pas la réaction.

– Pendant la réaction, la température doit être rigoureusement la même pour les échantillons et la gamme. En outre, le temps d'incubation devant être rigoureusement le même pour tous les échantillons, l'ajout de sulfate de cérium doit être fait en respectant les mêmes intervalles de temps.

– Les chlorures ont une action catalytique propre mais très faible. Leur addition en quantité importante augmente la sensibilité du dosage.

7.31.2 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif associé à un spectromètre de masse (ICP/MS)

Principe

L'échantillon liquide est introduit dans un plasma à couplage inductif qui est créé par le couplage de l'énergie d'un générateur de radiofréquence, avec un gaz (argon). La torche est positionnée horizontalement entre trois enroulements de cuivre, refroidis par eau ; ceux-ci sont reliés au générateur haute fréquence induisant un champ électromagnétique au niveau de la torche créant ainsi un plasma. La fonction du plasma pour un ICP-MS est d'être une source d'ionisation efficace pour des échantillons introduits. Les ions sont prélevés dans le plasma grâce à un cône échantillonneur en nickel, muni d'un orifice de 1 mm avec à l'arrière de celui-ci un deuxième cône appelé « écorceur », lui aussi en nickel. Les ions sont focalisés à l'entrée d'un quadripôle où sera effectuée la séparation en fonction du rapport M/Z. Les ions sont ensuite détectés par un multiplicateur d'électron.

Matériel

– Générateur inductif de plasma associé à un spectromètre de masse disposant d'un système de refroidissement de la chambre de nébulisation à une température de 0 °C. Cet instrument est dans une configuration classique et ne nécessite pas de réglages particuliers.

– Passeur automatique d'échantillons indispensable à cause du très long temps de dépollution au niveau de la partie introduction de l'échantillon. (Il faut compter environ 20 minutes par échantillon.)

☐ **Réactifs**

– Solution d'iodure de potassium à 1 g/L en I^-.

– Solution de rhodium métal à 1 g/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

La préparation des échantillons nécessite l'ajout d'un standard interne (rhodium) à la concentration de 10 µg/L dans tous les échantillons et étalons. Effectuer l'étalonnage avec des solutions à 0-1-2-5-10 µg/L d'iode obtenues dans l'eau ultra-pure à partir de la solution mère d'iode à 1 g/L.

■ Mode opératoire

Se reporter à la notice du matériel utilisé.

■ Expression des résultats

Exprimer les résultats en µg/L dans la solution initiale après correction du standard interne pour tenir compte d'éventuels effets de matrices au niveau de l'instrument.

Remarques

– Le problème principal est la différence de volatilité entre les formes I^- et I_2 de l'iode. Il faudra donc faire très attention à ce phénomène en évitant principalement l'ajout de tout acide qui modifierait cet équilibre.

– Les limites de détection sont de l'ordre de 0,05 à 0,1 µg/L en fonction du blanc de l'instrument.

7.31.3 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 10304-3 (octobre 1997) Qualité de l'eau – Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 3 : dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate.

7.32 Lithium

La méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et la méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma sont les méthodes les plus sensibles.

Effectuer le prélèvement dans un flacon en verre car le chlorure de lithium peut être utilisé comme catalyseur dans la fabrication du polyéthylène.

7.32.1 Méthode par spectrométrie d'émission avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.4.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.4.

☐ **Réactifs**

– Eau déionisée (ou ultra-pure)

– Solution mère étalon de lithium à 100 mg/L :

carbonate de lithium		532,3 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de lithium à 1 mg/L.

Amener 10 mL de la solution mère à 1 000 mL à l'aide d'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 0,5 mg/L).

Effectuer les mesures au spectromètre à la longueur d'onde de 670,8 nm. Construire la courbe d'étalonnage, et la vérifier tous les jours.

Se reporter au § A-7.1.4.

■ Mode opératoire

Filtrer l'eau à analyser et effectuer la mesure dans les mêmes conditions que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage ; tenir compte de la valeur lue pour le témoin.

Remarques

– La limite de détection est de 10 µg/L avec photomètre et 5 µg/L avec spectrométre.

– Dans les conditions opératoires ainsi définies, les cations et les anions suivants n'interfèrent pas, même s'ils sont présents aux concentrations ci-après : Na^+ : 2 g/L ; K^+ et Ca^{2+} : 0,5 g/L ; Mg^{2+}, Cl^- et SO_4^{2-} : 1 g/L. Par contre, le strontium interfère si la teneur dépasse 10 mg/L. On peut éliminer les interférences dues au calcium et au baryum en les précipitant sous forme de sulfate de baryum, de carbonate de calcium et de carbonate de strontium. Pour cela, ajouter à cinquante millilitres d'eau, 5 mL d'une solution contenant 5 g de sulfate de sodium et 10 g de carbonate de sodium par litre. Porter à l'ébullition. Laisser précipiter et filtrer. Laver le filtre et compléter avec de l'eau permutée à 50 mL.

– Prendre la précaution de laver le pulvérisateur à l'eau permutée avant chaque série de dosages en faisant fonctionner les brûleurs pendant 5 à 10 minutes.

– Il est indispensable d'effectuer deux ou trois mesures et de prendre la moyenne des résultats.

– Lorsque la mesure est effectuée avec un spectromètre d'absorption atomique en mode d'émission, l'utilisation d'un brûleur laminaire d'une longueur de 5 ou 10 cm accroît la sensibilité.

7.32.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de lithium à 100 mg/L :

carbonate de lithium		532,3 mg
eau déionisée (ou ultra-pure)	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de lithium à 1 mg/L.

Amener 10 mL de la solution mère à 1 000 mL avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Procéder aux mêmes dilutions que pour la méthode par spectrométrie d'émission avec flamme puis poursuivre comme pour le mode opératoire.

Nébuliser l'eau dans une flamme air-acétylène légèrement réductrice en intercalant de l'eau permutée entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 670,8 nm.

Remarques

– La limite de la détection est de 5 µg/L.

– Des variations relativement importantes de la teneur en sodium ne semblent pas perturber le dosage.

– Dans le cas de variations de la teneur en potassium, le témoin et les solutions étalons doivent avoir une teneur en potassium voisine de celle de l'eau à analyser.

7.32.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de lithium à 100 mg/L :

carbonate de lithium (Li_2CO_3)		532,3 mg
acide nitrique dilué au demi	*q.s.p.*	dissoudre
acide nitrique concentré		10 mL
eau ulta-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le carbonate de lithium avec un minimum d'acide nitrique dilué au demi. Ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré, puis ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

Se reporter au § A-7.1.6.

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 670,78 nm en ICP ou sur l'isotope 7 en ICP/MS.

Remarque
La limite de détection est d'environ 2 µg/L en ICP et 0,1 µg/L en ICP/MS.

7.32.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires.

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.33 Magnésium

Le magnésium se prête facilement aux techniques habituelles de l'analyse hydrologique. La méthode gravimétrique ne se pratique plus aujourd'hui. Les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique et par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma sont d'une grande sensibilité.

7.33.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide chlorhydrique (*d* = 1,19).
– Solution d'acide chlorhydrique 0,1 *N* environ :

acide chlorhydrique (*d* = 1,19)		8 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution de lanthane à 20 g/L :

oxyde de lanthane (O_3La_2)		24 g
acide chlorhydrique 0,1 *N*		50 mL
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dans une fiole jaugée de 1 litre placée dans un bain de glace, introduire l'oxyde de lanthane ; verser lentement et avec précaution l'acide chlorhydrique, la réaction est très exothermique. Après refroidissement, ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau déionisée.

– Solution mère étalon de magnésium à 1 g/L :

oxyde de magnésium (MgO) déshydraté		1,66 g
acide chlorhydrique 0,1 *N*	*q.s.p.*	1 L

Conserver la solution en flacon de polyéthylène.

– Solution fille étalon de magnésium à 2 mg/L :

solution mère étalon de magnésium		2 mL
acide chlorhydrique 0,1 *N*	*q.s.p.*	1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 0,5 à 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire 10 mL de solution de chlorure de lanthane puis 10 mL d'échantillon. Ajuster le volume avec de l'acide chlorhydrique 0,1 *N*.

Nébuliser la solution dans une flamme air-acétylène, en intercalant de l'eau ultra-pure entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 285,2 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes de magnésium par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– La solution de chlorure de lanthane permet d'éliminer les interactions éventuelles dues à la silice et à l'aluminium.

– La méthode décrite est directement applicable pour des concentrations comprises entre 0,5 et 5 mg de magnésium par litre.

– Pour des concentrations en magnésium comprises entre 1 et 10 mg/L, utiliser de préférence une flamme acétylène/monoxyde de diazote. Il en sera de même en présence d'eaux de forte minéralisation. Dans ce cas, remplacer le chlorure de lanthane par une solution de chlorure de césium ou de potassium à 20 g/L.

– Pour éviter le colmatage du brûleur et du nébuliseur, filtrer les échantillons contenant des matières en suspension après acidification.

7.33.2 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de magnésium à 100 mg/L :

oxyde de magnésium (MgO)		165,8 mg
acide nitrique dilué au demi	*q.s.p.*	dissoudre
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre l'oxyde de magnésium avec un minimum d'acide nitrique dilué au demi. Ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré et ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10mg/L).

Se reporter au § A-7.1.6.

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 279,08 nm.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 20 µg/L en ICP et 0,2 µg/L en ICP/MS.

7.33.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec flamme

Se reporter au § A-7.1.4.

La limite de détection usuelle est de 0,5 mg/L.

7.33.4 Méthode par hydrotimétrie

Le magnésium peut être estimé par la différence entre la dureté totale (§ A-5.9) et la dureté calcique (§ A-7.14.4).

7.33.5 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Qualité de l'eau – Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires (indice de classement T90-048).

AFNOR NF EN ISO 7980 (mars 2000). Qualité de l'eau – Dosage du calcium et du magnésium – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique. (indice de classement T90-005).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

NF T90-003 (août 1984). Essais des eaux – Détermination de la concentration totale en calcium et magnésium – Méthode titrimétrique à l'EDTA.

7.34 Manganèse (référence de qualité « Eau potable »)

La méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au periodate nécessite la destruction des chlorures et des matières organiques. L'oxydation par le periodate présente l'avantage de donner des solutions extrêmement stables. Les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique et par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma permettent des mesures rapides dans de bonnes conditions de sensibilité ; ce sont des méthodes de choix. Le dosage du manganèse doit être pratiqué immédiatement après le prélèvement car il a tendance à s'oxyder rapidement, à précipiter et à se fixer sur les parois du récipient. Dans le cas contraire, acidifier l'échantillon au moment du prélèvement.

7.34.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Le manganèse est oxydé en permanganate à l'aide de periodate de potassium en milieu acide. Le permanganate ainsi formé est dosé spectrométriquement.

□ Réactifs

– Utiliser de l'eau déionisée, exempte de matières organiques.
– Periodate de potassium cristallisé.
– Permanganate de potassium cristallisé.
– Hydrogénosulfite de sodium cristallisé.
– Acide nitrique pur (d = 1,33).
– Acide phosphorique sirupeux (d = 1,71).
– Acide sulfurique pur (d = 1,83).
– Acide sulfurique dilué au 1/20.
– Solution mère étalon de manganèse à 100 mg/L.

Dissoudre 0,288 g de permanganate de potassium dans environ 100 mL d'eau déionisée contenant 3 mL d'acide sulfurique. Ajouter 0,4 g environ d'hydrogénosulfite de sodium. Porter à ébullition. Refroidir. Ajuster le volume à 1 000 mL.

– Solution fille étalon de manganèse à 5 mg/L :

solution mère		50 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de béchers numérotés, introduire successivement :

Numéro des béchers	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution étalon de manganèse à 5 mg/L (mL)	0	1	2	5	10	15	20
Eau déionisée (mL)	100	99	98	95	90	85	80
Acide sulfurique (mL)	10	10	10	10	10	10	10
Correspondance en mg/L de manganèse	0	0,05	0,10	0,25	0,5	0,75	1

Ajouter quelques billes de verre et porter à ébullition. Concentrer jusqu'à fumées blanches. Éliminer la coloration éventuelle par addition de quelques gouttes d'acide nitrique. Refroidir les béchers puis ajouter successivement :

eau déionisée	25 à 30 mL
acide nitrique	10 mL
acide phosphorique	5 mL

Chauffer sur une plaque jusqu'à douce ébullition tout en ajoutant peu à peu 0,3 g de periodate de potassium. Porter à douce ébullition pendant 15 minutes pour faire apparaître la coloration. Refroidir et compléter à 100 mL. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 525 nm. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Verser dans un bécher 100 mL d'eau à analyser qui doit contenir entre 5 et 100 µg de manganèse. Diluer si nécessaire. Traiter ensuite l'échantillon comme indiqué pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 525 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL, la courbe donne la teneur en manganèse exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– La limite de détection est de 50 µg/L.

– Si l'eau est limpide et ne contient que du manganèse bivalent dissous, celui-ci peut être stabilisé par addition de 1 ou 2 mL d'acide sulfurique. Si elle est trouble, filtrer sur membranes en fibres de verre.

– Si du manganèse paraît adhérer aux parois du flacon de prélèvement, le dissoudre dans une quantité minimum d'acide sulfurique.

– Si après développement de la coloration il apparaît un précipité de sulfate de calcium, le séparer par centrifugation.

– Cette méthode permet de doser de très faibles quantités de manganèse à condition d'éliminer complètement les chlorures avant l'oxydation et que l'acidité de la solution ne dépasse pas 15 mL d'acide sulfurique pour 100 mL. En général l'acidité est maintenue à 5 ou 6 %.

– L'acide phosphorique sirupeux est introduit afin de détruire la coloration jaune due à la présence éventuelle de fer.

– Dans le cas d'une forte teneur en matière organique, traiter au préalable l'échantillon par quelques millilitres de perhydrol.

7.34.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de manganèse à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du manganèse par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (A-7.34.4).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 279,5 nm.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes de manganèse par litre.

Remarques

– La limite de détection est de 10 µg/L.

– La complexation du manganèse avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 2 et 500 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (§ A-7.26.4).

7.34.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ **Matériel spécial**

se reporter au § A-7.1.5.

□ **Réactifs**

– Acide nitrique (d = 1,38).

– Solution mère étalon de manganèse à 1 g/L :

manganèse		1 g
acide nitrique		60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de manganèse à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 100 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 °C pendant 15 secondes, minéraliser (pyrolyse) entre 1 100 °C (sans modificateur) et 1 400 °C (avec modificateur) pendant 30 à 45 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 2 100 °C (sans modificateur) à 2 300 °C (avec modificateur) pendant 10 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 279,5 nm.

Remarque

La limite de détection est de 1 µg/L.

7.34.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de manganèse à 100 mg/L :

manganèse métal		100 mg
acide chlorhydrique concentré		10 mL
acide nitrique concentré		1 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le manganèse dans un mélange de 10 mL d'acide chlorhydrique concentré et 1 mL d'acide nitrique concentré. Après dissolution, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 257,61 nm en ICP ou sur l'isotope 55 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 0,5 µg/L en ICP et 0,05 µg/L en ICP/MS.

7.34.5 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF T90-024 (octobre 1963). Essais des eaux – Dosage spectrométrique du manganèse

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires.

FD 90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 8 éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.35 Mercure (limite de qualité « Eau potable »)

Pratiquement, le mercure peut se trouver dans l'eau, fixé sur les matières en suspension et (ou) à l'état dissous, sous forme de composés organiques

et (ou) à l'état minéral. Le cas échéant, il pourra être nécessaire de procéder à une filtration avant minéralisation. En général, la conservation de l'échantillon sera assurée par addition d'acide nitrique (*q.s.p. p*H $<$ 0,5) en flacons de verre borosilicaté. Si l'on désire doser séparément le mercure fixé sur les particules, l'acide nitrique ne sera ajouté qu'après filtration de l'échantillon. Si le dosage est différé après le prélèvement, ajouter une quantité suffisante de solution de permanganate de potassium pour obtenir la persistance d'une coloration rose (4 mL en général).

Le dosage du mercure total est effectué par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation de l'échantillon obtenue soit au permanganate peroxodisulfate soit au brome ou encore par spectrométrie de fluorescence atomique. Celui de mercure organique est réalisé par chromatographie gazeuse.

7.35.1 Dosage du mercure total par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation au permanganate péroxodisulfate

■ Principe

Après oxydation et minéralisation par le permanganate de potassium et le persulfate de potassium à 95 °C, le mercure est libéré de sa solution par réduction et entraîné par un courant de gaz inerte. Le dosage s'effectue par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme à 253,7 nm.

□ Matériel spécial

– Verrerie ; avant utilisation, la nettoyer à l'acide nitrique (*d* = 1,4) ou de préférence avec la solution acide de dichromate de potassium ; rincer plusieurs fois à l'eau déionisée.

– Spectromètre d'absorption atomique équipé d'une lampe à cathode creuse au mercure et d'une lampe au deutérium pour correction du bruit de fond.

– Enregistreur.
– Flacon laveur de 250 mL environ s'adaptant à l'appareillage.
– Bain-marie.
– Air comprimé ou gaz inerte.
– Adaptation d'un dispositif (lampe infra-rouge, épiradiateur) permettant d'éviter la condensation de la vapeur d'eau à l'intérieur de la cuve de mesure.
– Piège permettant d'absorber les vapeurs de mercure à la sortie de la cuve de mesure.
– Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Utiliser de l'eau déionisée (de préférence) ou ultra-pure et des réactifs dont la teneur en mercure est aussi faible que possible.
– Acide sulfurique (*d* = 1,84) dilué au demi.
– Acide nitrique (*d* = 1,40).
– Acide chlorhydrique (*d* = 1,19).
– Solution d'acide chlorhydrique à 11 g/L environ.
– Solution de permanganate de potassium à 50 g/L.
Conserver cette solution dans un flacon en verre brun.
– Solution de persulfate de potassium à 50 g/L.
– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 100 g/L.
– Solution de chlorure d'étain à 100 g/L.

À préparer chaque jour selon l'une des manières suivantes :

a) chlorure d'étain ($SnCl_2$, 2 H_2O)		25 g
acide chlorhydrique chaud		50 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	250 mL

Introduire le chlorure d'étain dans une fiole jaugée de 250 mL, ajouter l'acide chlorhydrique chaud, agiter jusqu'à dissolution. Si la solution est trouble, la filtrer ; ajouter un petit grain d'étain au filtrat. Après refroidissement, compléter le volume avec de l'eau déionisée. Agiter.

b) étain		13 g
acide chlorhydrique (*d* = 1,19)		20 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	250 mL

Introduire l'étain dans une fiole conique, ajouter l'acide chlorhydrique. Placer la fiole dans un bain d'eau bouillante jusqu'à dissolution de l'étain. Laisser refroidir, transvaser dans une fiole jaugée de 250 mL, ajuster le volume avec de l'eau déionisée. Si nécessaire, chasser le mercure de ces solutions par barbotage d'air comprimé ou de gaz inerte.

– Solution acide de dichromate de potassium à 4 g/L :

dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$)	4 g
eau déionisée	500 mL
acide sulfurique ou nitrique	500 mL

Ajouter l'acide dans l'eau avec précaution.

– Solution d'iode :

iode		2,5 g
iodure de potassium		30 gL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Utiliser cette solution pour absorber les vapeurs de mercure.

– Solution mère étalon de mercure à 1 g/L :

chlorure mercurique ($HgCl_2$)		1,354 g
acide chlorhydrique		25 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver cette solution au réfrigérateur en flacon de polyéthylène. Stabiliser éventuellement la solution par 50 mL de solution acide de dichromate de potassium à 4 g/L.

– Solution fille étalon de mercure à 10 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/100 avec la solution d'acide chlorhydrique à 11 g/L. À préparer extemporanément.

– Solution fille étalon de mercure à 0,1 mg/L.

Diluer au 1/100 la solution précédente avec la solution d'acide chlorhydrique à 11 g/L. À préparer extemporanément.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles coniques de 250 mL, bouchées émeri, introduire successivement :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV
Solution fille étalon de mercure à 0,1 mg/L (mL)	0	1	2	5	10
Eau déionisée ou ultra-pure (mL) *q.s.p.*	100	100	100	100	100
Correspondance en µg de mercure	0	0,1	0,2	0,5	1
Bien mélanger puis ajouter successivement en agitant après chaque addition					
Acide sulfurique dilué au demi (mL)	10	10	10	10	10
Acide nitrique (mL)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Solution de permanganate de potassium (mL)	15	15	15	15	15
Solution de persulfate de potassium (mL)	8	8	8	8	8

Mettre 2 heures au bain-marie à 95 °C.

Laisser refroidir puis réduire l'excès de permanganate par addition de la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine. Procéder ensuite comme indiqué dans le mode opératoire. Effectuer la mesure et construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Dans une fiole conique, bouchée émeri, introduire 100 mL d'eau à analyser, puis 10 mL d'acide sulfurique. Mélanger. Ajouter 2,5 mL d'acide nitrique et mélanger à nouveau. Verser 15 mL de solution de permanganate de potassium, s'assurer que la coloration rose persiste pendant 15 minutes. Introduire 8 mL de solution de persulfate de potassium et porter au bain-marie à 95 °C pendant 2 heures. Après refroidissement, réduire l'excès de permanganate par addition de solution de chlorhydrate d'hydroxylamine. Transvaser dans un flacon barboteur. Relier un flacon contenant de l'eau déionisée au spectromètre et à la bouteille d'azote, faire passer le courant gazeux au débit de 1 L/min, régler le fonctionnement de l'appareillage. Remplacer le flacon par celui contenant la solution d'essai, introduire rapidement 2 mL de solution de chlorure stanneux, boucher le flacon et procéder à la mesure par enregistrement du pic qui atteint rapidement son maximum.

Avant de procéder à la mesure suivante, purger le circuit gazeux du spectromètre en remettant en place un flacon rempli d'eau. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Remarques

– La limite de détection est de 0,05 µg/L dans les meilleures conditions (faible bruit de fond de l'appareil, qualité de la lampe).

– Pour les eaux claires et peu chargées, une minéralisation à froid est suffisante. Après l'addition de permanganate et de persulfate, attendre chaque fois 15 minutes.

– Prendre toutes les précautions pour éviter la contamination par le mercure au cours des manipulations et vérifier l'absence de ce métal dans les réactifs et dans l'atmosphère du laboratoire.

– La présence de bromure et d'iodure peut masquer le mercure, principalement après la minéralisation.

– En présence de chlorures, la consommation de solution de permanganate de potassium sera importante.

– Vérifier avant la mesure l'absence de chlore libre, qui absorbe la longueur d'onde 253,7 nm.

– Il existe dans le commerce des appareils autonomes permettant ce dosage.

– Pour le dosage du mercure sous ses différentes formes, opérer de la manière suivante :

mercure total : opérer sur l'échantillon brut conservé à l'acide nitrique ;

mercure dissous : opérer sur l'échantillon filtré, sans addition d'acide nitrique ;

mercure fixé sur les matières en suspension : le déterminer par calcul à partir des résultats précédents.

– Pour doser le mercure dans les boues ou sédiments, traiter à l'ébullition pendant 30 secondes 0,5 g d'échantillon par 20 mL d'eau régale. Refroidir, diluer éventuellement et opérer ensuite comme pour l'eau. L'eau régale doit être préparée récemment (1 partie d'acide nitrique, 3 parties d'acide chlorhydrique). La présence de chlore évite ainsi la perte de mercure.

– Après chaque utilisation, traiter les flacons laveurs utilisés pour l'entraînement du mercure par la solution de dichromate de potassium pour oxyder les traces d'étain.

7.35.2 Dosage du mercure total par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation au brome

■ Principe

Après oxydation et minéralisation par le brome à 45 °C, le mercure est libéré de sa solution par réduction et entraîné par un courant de gaz inerte. Le dosage s'effectue comme dans la méthode précédente par absorption atomique sans flamme à 253,7 nm.

☐ Matériel spécial

Se reporter à la méthode précédente et au § A-7.1.5.

– Agitateur magnétique.

– Bain thermostaté ou incubateur réglé à 45 °C.

☐ Réactifs

– Utiliser de l'eau déionisée ou (de préférence) de l'eau ultra-pure.

– Solution d'acide nitrique à 10 mol/L :

acide nitrique (d = 1,42)		67 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de brome à 15 g/L environ :

brome (d = 3,12)		0,5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

À renouveler chaque semaine.

– Solution acide de brome à 1,5 g/L :

solution de brome à 15 g/L	10 mL

solution d'acide nitrique 10 mol/L		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 10 g/L :

chlorhydrate d'hydroxylamine		1 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Préparer cette solution extemporanément.

– Solution de chlorure d'étain à 100 g/L.

Voir méthode précédente.

– Gaz d'entraînement : air comprimé ou gaz inerte.

– Solution d'iode :

iode		2,5 g
iodure de potassium		30 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution mère étalon de mercure à 1 g/L :

chlorure mercurique ($HgCl_2$) séché au préalable pendant 24 heures sur du pentoxyde de phosphore (P_2O_5)		1,354 g
acide nitrique 10 mol/L		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Cette solution peut être conservée en flacon de verre borosilicaté pendant un mois environ.

– Solution fille étalon de mercure à 10 mg/L.

Diluer au 1/100 la solution mère étalon en ajoutant 10 mL d'acide nitrique 10 mol/L avant d'ajuster le volume.

Préparer cette solution extemporanément.

– Solution fille étalon de mercure à 0,1 mg/L.

Diluer la solution précédente au 1/100 en ajoutant 10 mL d'acide nitrique avant d'ajuster le volume.

Préparer cette solution extemporanément.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 5 à 10 µg/L).

Mode opératoire

Dans une fiole conique de 250 mL, introduire 100 mL d'échantillon, ajouter 1 mL d'eau bromée, boucher la fiole, mélanger et la placer dans un bain thermostaté à 45 °C ou en incubateur pendant 4 h.

Mélanger puis après retour à la température ambiante, vérifier la présence de brome libre visuellement par la couleur jaune de la solution ou avec du papier iodoamidonné si la couleur de l'échantillon gêne.

Transvaser 50 mL de solution minéralisée dans un flacon laveur spécial contenant un barreau aimanté et 1 mL de solution de chlorhydrate d'hydroxylamine. Ajouter 1 mL de solution de chlorure d'étain. Boucher immédiatement la flacon, le placer sur un agitateur électromagnétique, agiter vivement pendant 3 min. Au cours de l'agitation, l'extrémité en verre fritté du tube de barbotage doit rester immergée dans la solution. Brancher le flacon au dispositif du gaz d'entraînement, faire passer la vapeur de mer-

cure ainsi entraînée dans la cuve du spectromètre, procéder à la mesure par enregistrement du pic qui atteint rapidement son maximum. Se reporter à la courbe d'étalonnage. Avant de procéder à la mesure suivante, purger le circuit gazeux du spectromètre en remettant en place un flacon rempli d'eau.

Remarques

– Conserver la fraction de 50 mL d'échantillon minéralisé, non utilisée, pour un contrôle éventuel, en particulier pour vérifier la présence d'agents interférents dans l'échantillon. Pour cela, effectuer un dosage en utilisant le mode opératoire décrit sur une aliquote à laquelle aura été ajoutée une quantité connue de mercure.

– Après chaque utilisation, traiter les flacons laveurs utilisés pour l'entraînement du mercure gazeux par de la solution de brome acide pour oxyder les traces d'étain. Conserver les flacons remplis d'eau.

7.35.3 Dosage du mercure total par spectrométrie de fluorescence atomique

■ Principe

Après oxydation et minéralisation par le brome, les vapeurs de mercure générées par réduction à l'étain (II) sont entraînées par un courant de gaz inerte. Après élimination de l'humidité, le dosage des vapeurs de mercure s'effectue par spectrométrie de fluorescence atomique.

□ Matériel spécial

– Système comprenant un générateur de vapeur, un séparateur gaz/liquide, un système de déshumidification, un spectromètre de fluorescence atomique et un traitement de données.

– Une alimentation en Argon de grande pureté, avec épurateur de gaz.

– Matériel de laboratoire parfaitement nettoyé à l'acide nitrique (trempage de 48 h), puis parfaitement rincé, puis plongé (24 h) dans le mélange bromure de potassium/bromate de potassium et enfin neutralisé par un excès de solution d'acide ascorbique.

– Flacons à réactifs en verre équipé d'un bouchon à valve et tuyau (PTFE) de transfert.

□ Réactifs

– Utiliser de préférence de l'eau ultra-pure.

– Mélange $KBr/KBrO_3$, en volumes égaux (à préparer au moment de l'utilisation) :

Solution de bromate de potassium à	5,56 g/L
Solution de bromure de potassium à	23,80 g/L

– Solution d'acide L-ascorbique à 100 g/L (à conserver une semaine).

– Solution de dichromate de potassium à 50 mg/L.

– Solution d'acide chlorhydrique :

HCl pur (d = 1,19)		167 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	500 mL

– Solution de chlorure d'étain dihydraté à 20 g/L purgée avec de l'argon :

$SnCl_2$, 2 H_2O	10 g

Solution de HCl		150 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	500 mL

– Acide nitrique pur (d = 1,4).
– Réactif « Blanc » :

Solution d'acide chlorhydrique		150 mL
Mélange $KBr/KBrO_3$		20 mL
Solution d'acide ascorbique		10 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution mère étalon de mercure à 1 g/L (se reporter au § A-7.35.2).
– Solution fille étalon de mercure à 10 mg/L (préparer chaque semaine) :

Solution mère étalon de mercure à 1 g/L		1 mL
Mélange $KBr/KBrO_3$		2 mL
Solution d'acide chlorhydrique		15 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution fille étalon de mercure à 0,1 mg/L (préparer au moment de l'utilisation) :

Solution fille étalon de mercure à 10 mg/L		1 mL
Réactif « Blanc »	*q.s.p.*	100 mL

– Solution fille étalon de mercure à 1 µg/L (préparer au moment de l'utilisation) :

Solution fille étalon de mercure à 0,1 mg/L		1 mL
Réactif « Blanc »	*q.s.p.*	100 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille à 1 µg/L, quatre à cinq dilutions, avec le réactif « Blanc », couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. 0,1 à 0,2 µg/L).

Mode opératoire

Dans une fiole jaugée de 50 mL, transférer 35 mL d'échantillon, introduire 7,5 mL de solution d'acide chlorhydrique et 1 mL de mélange $KBr/KBrO_3$ et compléter à 50 mL avec l'eau ultra-pure. Attendre 30 à 60 minutes. Si une coloration jaune persiste, ajouter 1 mL de mélange $KBr/KBrO_3$. Faire le « zéro » avec le réactif « Blanc » traité par le même protocole.

Se reporter aux consignes du fabriquant.

Remarques

Utiliser des réactifs ultra-purs.

Interférences possibles ou dépression du signal :
– présence de vapeur d'eau dans la cellule de fluorescence,
– anions sulfure, iodure, bromure,
– métaux nobles (Au, Ag, Pt).

Limite de détection usuelle : 1 ng/L

7.35.4 Dosage du mercure organique

■ Principe

Les organomercuriels sont extraits sous forme d'halogénures par le benzène. Après purification réalisée par la formation d'un complexe soluble dans l'eau avec la cystéine puis une nouvelle extraction par le benzène, la détermination est effectuée par chromatographie gazeuse avec détecteur à capture d'électrons ou encore couplée à la spectrométrie d'absorption atomique.

□ **Matériel spécial**

– Chromatographe équipé en capture d'électrons (Ni ^{63}).
– Colonnes spéciales.
– Ampoules à décanter de 125 et 500 mL.

□ **Réactifs**

– Solution de cystéine :

chlorhydrate de cystéine, H_2O		1 g
acétate de sodium, 3 H_2O		0,78 g
sulfate de sodium anhydre		12,5 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

Conserver cette solution à 3 °C, la renouveler tous les 3 jours.

– Sulfate de sodium anhydre.
– Bromure de potassium.
– Acide bromhydrique 47-49 %.

À redistiller de préférence avant emploi, à 125-127 °C.

– Acide iodhydrique 57 %.

Laver ce réactif avec du benzène avant son utilisation.

– Benzène.
– Solution mère étalon de méthylmercure à 100 mg/L :

méthylmercure		100 mg
benzène	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon de méthylmercure à 1 mg/L.

Diluer 10 mL de la solution mère à 1 L avec du benzène.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution étalon à 1 mg/L de méthylmercure, des dilutions contenant de 5 à 250 µg/L de méthylmercure.

Le choix de la gamme est déterminé en tenant compte de la concentration de l'échantillon. Procéder à l'extraction comme pour le mode opératoire. Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Extraction

Dans une ampoule à décantation de 500 mL, introduire successivement :

– eau à analyser : 200 mL ;

– acide bromhydrique : 22 mL ;
– bromure de potassium : 40 g.

Boucher hermétiquement et agiter jusqu'à dissolution complète. Ajouter 25 mL de benzène, agiter 3 min. Laisser reposer, récupérer la phase organique. Recommencer l'extraction 2 fois, réunir les phases organiques, faire passer la solution benzénique sur une colonne contenant environ 2 à 3 cm de sulfate de sodium anhydre. Rincer la colonne avec 10 mL de benzène, le joindre à la solution.

Purification

Verser la solution benzénique dans une ampoule à décantation de 125 mL. Ajouter 2 mL de solution de cystéine, agiter 3 minutes, recueillir la phase aqueuse. renouveler l'extraction avec 2 mL de solution de cystéine, joindre la solution aqueuse à la précédente puis la laver avec 2 mL de benzène.

Dans une ampoule à décantation de 30 mL, introduire :
– la solution aqueuse ;
– 0,1 mL d'acide iodhydrique ;
– 2 mL de benzène.

Agiter 3 minutes. Laisser les phases se séparer, recueillir la solution benzénique, la sécher en la traitant par du sulfate de sodium anhydre.

Analyse chromatographique

Injecter 5 µL d'extrait benzénique dans le chromatographe dont les conditions opératoires sont établies ainsi :
– gaz vecteur : azote ;
– débit : 120 mL/min ;
– température injecteur : 225 °C ;
– température colonne : 140 °C ;
– température détecteur Ni ^{63} : 275 °C.

Les temps de rétention absolus du méthyl et de l'éthylmercure pour la colonne décrite sont respectivement de 5,5 et 9,7 minutes.

Expression des résultats

Pour une prise d'échantillon de 200 mL, la courbe donne directement la teneur en méthylmercure en microgrammes par litre.

Remarques

– Avant leur utilisation, traiter les colonnes à 220 °C sous courant d'azote pendant 48 heures.

– Dans le cas où la séparation des phases aqueuse et organique s'effectue difficilement, recueillir le maximum de la phase aqueuse et briser l'émulsion avec quelques millilitres d'éthanol à 95 %.

– Le pourcentage d'extraction du méthylmercure est d'environ 86 à 90 %.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN 1483 (juin 2007). Qualité de l'eau – Dosage du mercure (indice de classement T 90-113-1).

NF EN 12338 (octobre 1998). Qualité de l'eau – Dosage du mercure – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique – Méthodes après enrichissement par amalgame (Indice de classement T90-113-3).

NF EN ISO 17852 (mars 2008). Qualité de l'eau – Dosage du mercure – Méthode par spectrométrie de fluorescence atomique (Indice de classement T90-139).

7.36 Molybdène

7.36.1 Méthode par spectrométire d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide nitrique (d = 1,38).

– Solution de molybdène à 1 g/L dans l'eau ultra-pure :

paramolybdate d'ammonium		1,840 g
acide chlorhydrique 10 %	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure, couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 20 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 °C pendant 15 secondes, minéraliser (pyrolyse) à 1 800 °C (sans modificateur) pendant 30 secondes, puis atomiser à 2 700 °C (sans modificateur) pendant 15 à 30 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 313, 3 nm.

Remarque

La limite de détection est de 1 µg/L.

7.36.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Se reporter au § A-7.1.5.

– Solution mère étalon de molybdène à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du molybdène par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (§ A-7.36.3).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 313,3 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 20 µg/L.

– La complexation du molybdène avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinodithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 1 et 25 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer.

7.36.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ Réactifs

– Solution mère étalon de molybdène à 100 mg/L :

molybdate d'ammonium		203,4 mg
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 202,03 nm en ICP ou sur les isotopes 95 ou 96 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 5 µg/L en ICP et 0,1 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.37 Nickel (limite de qualité « Eau potable »)

7.37.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de nickel à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du nickel par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (§ A-7.37.3).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 232,0 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 30 µg/L.

– La complexation du nickel avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 1 à 200 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer.

7.37.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Acide nitrique (*d* = 1,38).

– Solution mère étalon de nickel à 1 g/L :

nickel métallique		1 g
acide nitrique		60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 150 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à une température comprise entre 1 100 °C (sans modificateur) et 1 400 °C (avec modificateur) pendant 45 secondes, puis atomiser à 2 400 °C (sans ou avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 232, 0 nm.

Remarque

La limite de détection est de 0,5 µg/L.

7.37.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de nickel à 100 mg/L :

nickel métal		100 mg
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le nickel dans 10 mL d'acide nitrique concentré et chaud. Après dissolution et refroidissement, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 231,2 nm en ICP ou sur les isotopes 58 ou 60 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 2 µg/L en ICP et 0,005 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF T90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage des huit éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

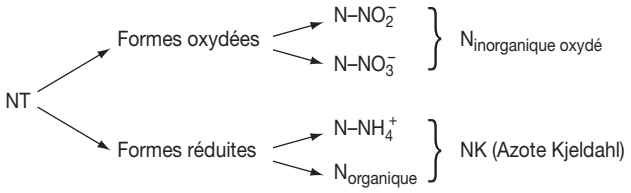
AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.38 Nitrate (limite de qualité « Eau potable »)

Les nitrates (ou azote nitrique) représentent la forme azotée souvent la plus présente dans les eaux naturelles. Les nitrates constituent la composante principale de l'azote inorganique ($N_{inorganique}$) ou minéral, lui-même inclus majoritairement dans l'azote global (NGL) ou azote total (NT) avec une autre composante, l'azote organique ($N_{organique}$).

$$N_{inorganique} = N\text{-}NH_4^+ + N\text{-}NO_3^- + N\text{-}NO_2^- = NT - N_{organique}$$

Une autre classification des formes d'azote consiste à différencier les formes oxydées ($N\text{-}NO_3^-$ et $N\text{-}NO_2^-$) des formes réduites ($N\text{-}NH_4^+$ et $N_{organique}$).



Le dosage des nitrates fait appel à des méthodes relativement complexes avec une grande probabilité de présence de constituants interférents (sauf pour la méthode par chromatographie ionique). De ce fait, la détermination des nitrates est délicate. Pour chaque type d'échantillon, le choix de la méthode est déterminé par la concentration à doser et les interférences probables.

Les méthodes sont :

– la méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire avec l'acide sulfosalicylique, applicable aux quantités comprises entre 1 et 5 μg N (soit 0,2 à 1 mg/L de nitrates)

– la chromatographie ionique, applicable aux teneurs supérieures à 1 mg/L,

– la réduction au cadmium applicable aux teneurs comprises entre 0,01 et 1 mg-N/L (soit 0,04 à 4,4 mg NO_3/L) avec une adaptation en automatique dans la gamme de 0,05 à 20 mg N/L (soit 0,22 à 88,6 mg NO_3/L).

Les méthodes spectrométriques exigent un échantillon limpide : les échantillons turbides doivent être filtrés sur membrane 0,45 μm après avoir vérifié qu'elle ne contient pas de nitrates. De plus, les colorations développées sont très sensibles aux interférences.

Le titre en sels d'acides forts (SAF ou Taci) permet d'obtenir un excellent ordre de grandeur de la somme « chlorures + sulfates + nitrates » applicable à la plupart des eaux naturelles (cf. § A-5.10).

Prélever les échantillons en flacon de verre ou de polyéthylène. Les refroidir à 4 °C sur le lieu de prélèvement. Effectuer le dosage dans les meilleurs délais pour éviter l'évolution rapide des nitrates et des nitrites.

7.38.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage spectrométrique.

Se reporter au § A-7.1.1.

☐ **Matériel spécial**

– Capsule de 60 mL environ.
– Bain-marie.
– Se reporter au § A.7.1.1.

☐ **Réactifs**

– Solution de salicylate de sodium à 10 g/L à renouveler toutes les 24 heures.
– Acide sulfurique concentré (*d* = 1,84).
– Solution d'hydroxyde de sodium :

hydroxyde de sodium		200 g
sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique		50 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre avec précaution l'hydroxyde de sodium dans 800 mL d'eau déionisée ; ajouter le sel sodique EDTA. Après dissolution et refroidissement, transvaser la solution dans une fiole jaugée, ajuster le volume à 1 litre. Conserver cette solution dans un flacon de polyéthylène.

– Solution d'azoture de sodium :

azoture de sodium		50 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution mère étalon d'azote nitrique à 100 mg/L :

nitrate de potassium anhydre		722 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

À renouveler tous les deux mois.

– Solution fille étalon d'azote nitrique à 5 mg/L.

Amener 50 mL de la solution mère à 1 000 mL avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de capsules de 60 mL, introduire successivement :

Numéro des capsules	T	I	II	III	IV
Solution étalon d'azote nitrique 5 mg/L (mL)	0	1	2	5	10
Eau déionisée (mL)	10	9	8	5	0
Correspondance en mg/L d'azote nitrique	0	0,5	1	2,5	5
Solution d'azoture de sodium (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide acétique (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Attendre 5 minutes puis évaporer à sec au bain-marie ou dans une étuve portée à 75-80 °C (ne pas surchauffer ni chauffer trop longtemps). Ajouter 1 mL de solution de salicylate de sodium, mélanger puis évaporer. Laisser refroidir.

Reprendre le résidu par 1 mL d'acide sulfurique concentré ayant soin de l'humecter complètement. Attendre 10 minutes, ajouter 15 mL d'eau déionisée puis 10 mL de solution d'hydroxyde de sodium qui développe la couleur jaune. Effectuer les lectures au spectromètre à la lon-

gueur d'onde de 415 nm. Soustraire des unités d'absorbance, lues pour les étalons, la valeur relevée pour le témoin. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 10 mL d'eau dans une capsule de 60 mL (pour des teneurs en azote nitrique supérieures à 10 mg/L, opérer une dilution). Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium. Poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 10 mL d'eau déionisée. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 415 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimée en milligrammes par litre d'eau. Pour obtenir la teneur en nitrate (NO_3), multiplier ce résultat par 4,43.

Remarques

– Si l'eau à analyser est très trouble, ajouter lors du prélèvement quelques pastilles d'hydroxyde de sodium pour avoir un *p*H d'environ 8,5 puis agiter avec 0,5 g de charbon actif après avoir vérifié que ce dernier ne fixe pas les nitrates. Filtrer. Pour le dosage des nitrates, n'utiliser qu'une solution claire.

– Vérifier que la filtration éventuelle sur membrane n'entraîne pas une erreur par excès.

– L'adjonction de sel disodique de l'EDTA dans la solution d'hydroxyde de sodium évite la précipitation du calcium et du magnésium.

– L'azoture de sodium élimine l'interférence des nitrites.

– La coloration jaune du parasalicylate de sodium est la plus intense des colorations fournies par les nitrates (brucine, diphénylamine, acide phénoldisulfonique). Elle est stable au moins 1 heure.

– Il n'y a pas d'interférence par le Cl^- jusqu'à 200 mg/L. Au-delà traiter préalablement une quantité aliquote par une solution de sulfate d'argent 0,025 *N*, exempte de nitrates (sulfate d'argent : 3,898 g dissous dans 1 litre d'eau déionisée). Séparer le précipité par filtration, le laver à l'eau déionisée, exempte de nitrates et pratiquer le dosage sur le filtrat et les eaux de lavage réunis ; tenir compte de la dilution pour le calcul des résultats.

– Le fer interfère au-delà de 5 mg/L. L'éliminer par agitation en présence d'oxyde de zinc et filtration.

– La Loi de Beer-Lambert est observée pour des concentrations de 0 à 10 mg/L.

– La précision pour une concentration de 1 mg/L est de ± 3 %.

7.38.2 Méthode par réduction au cadmium

La méthode décrite pour le dosage des nitrates dans l'eau de mer est applicable aux eaux naturelles.

7.38.3 Méthode par flux continu (méthode CFA)

■ Principe

Les nitrates sont réduits en nitrites par passage sur une colonne cadmium-cuivre ; les nitrites sont déterminés par spectrométrie d'absorption moléculaire après diazotation de l'amino-4-benzènesulfonamide (sulfanilamide) et copulation à *p*H 1,9 avec le dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2-éthane (*N*-1-naphtyléthylènediamine).

Se reporter au § A-7.1.2.

☐ Réactifs

– Acide phosphorique (*d* = 1,7).

– Réactif de diazotation :

acide phosphorique		100 mL
amino-4-benzènesulfonamide ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$)		10 g
dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2-éthane ($C_{10}H_7NH–CH_2–CH_2–NH_2$-2 HCl)		0,5 g
agent mouillant non ionique (NP 10)		1 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Mélanger l'acide phosphorique à environ 800 mL d'eau déionisée, ajouter l'amino-4-benzènesulfonamide, agiter puis introduire le dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2-éthane. Après dissolution complète, ajouter l'agent mouillant et compléter le volume à 1 litre avec de l'eau déionisée.

– Solution de chlorure d'ammonium à 85 g/L :

chlorure d'ammonium		85 g
agent mouillant		1 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Conservée en flacon en verre à l'obscurité, cette solution est stable un mois.

– Solution de sulfate de cuivre pentahydraté à 20 g/L.

– Solution d'acide chlorhydrique 5 *N* environ :

acide chlorhydrique (*d* = 1,18)		500 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

Verser avec précaution l'acide chlorhydrique dans l'eau en agitant.

– Éther diéthylique.

– Cadmium en granulés d'une granulométrie comprise entre 315 et 710 µm.

– Réducteur cadmium cuivre :

cadmium en granulés	10 g
éther diéthylique	50 mL
acide chlorhydrique 5 *N*	50 mL
solution de sulfate de cuivre	200 mL

Traiter le cadmium en granulés par 50 mL d'éther diéthylique puis le rincer à l'eau déionisée ; le laver ensuite dans 50 mL d'acide chlorhydrique et rincer trois fois à l'eau déionisée. Ajouter 100 mL de solution de sulfate de cuivre, agiter les granulés pendant 5 à 10 min.

Après décantation, éliminer la solution de sulfate de cuivre et renouveler l'opération avec à nouveau 100 mL de solution de sulfate de cuivre jusqu'à formation d'un précipité brun colloïdal. Rincer les granulés de cadmium cuivre à l'eau déionisée jusqu'à élimination de tout le précipité. Une dizaine de rinçages sont nécessaires. Conserver les granulés dans l'eau.

– Solution mère étalon d'azote nitrique à 1 g/L :

nitrate de potassium séché à 105 °C pendant deux heures au moins		7,218 g
chloroforme		1 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Conservée en flacon inactinique, cette solution est stable un mois.

– Solution fille étalon à 200 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/5.

Conservée en flacon de verre brun, cette solution est stable un mois.

– Solution mère étalon de nitrite à 100 mg/L :

nitrite de sodium		0,492 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Conservée en flacon de verre brun, cette solution est stable une semaine.

■ Préparation de la colonne

Prendre un tube de diamètre interne de 0,081 (violet) et le remplir d'eau déionisée. À l'aide d'une pipette de Pasteur, introduire les granulés de cadmium et mettre aux extrémités un tampon de laine de verre. Avant de mettre en place la colonne ainsi préparée, s'assurer que les tubes sont remplis de réactifs et qu'ils ne contiennent pas de bulles d'air.

Quand la colonne n'est pas en fonction, maintenir les granulés à l'abri de l'air en remplissant la colonne de solution de chlorure d'ammonium. Avant la remise en service, débrancher la colonne du circuit analytique et la rincer à l'eau. La conservation des granulés dans le chlorure d'ammonium permet une remise en fonction plus rapide.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille étalon une série de dilutions comprises entre 0 et 20 mg/L d'azote nitrique. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le monde opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation page suivante.

La cadence des déterminations est de 20 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 108 secondes pour des prises d'échantillon de 72 secondes.

Faire fonctionner l'appareillage avec les réactifs et de l'eau permutée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures à 520 nm.

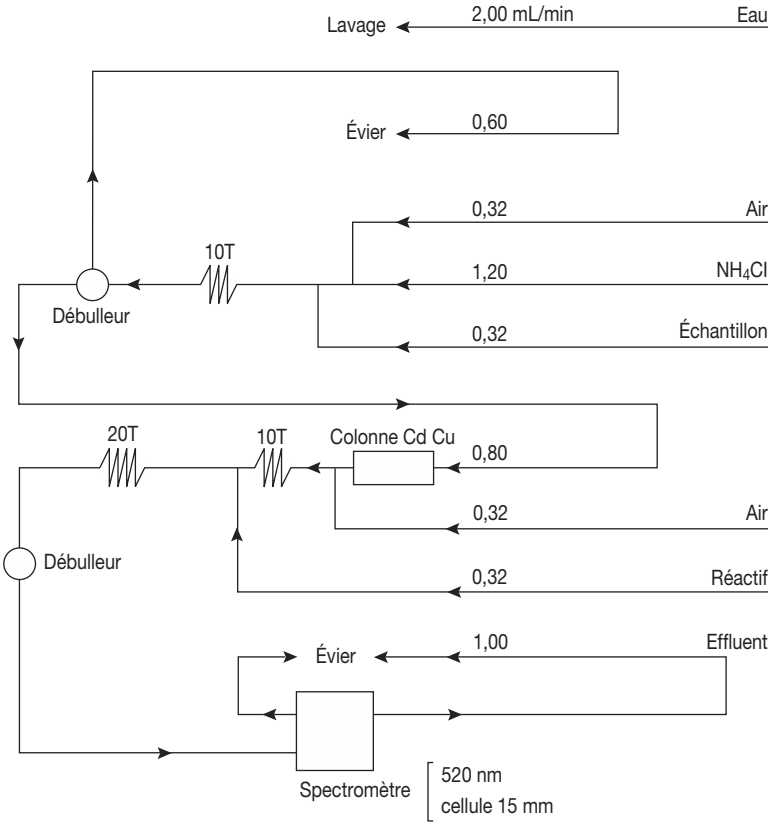


Schéma d'utilisation

Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimée en milligramme par litre.

Pour le dosage des nitrates, calculer la concentration en azote nitrique en déduisant de la concentration totale en azote celle de l'azote nitreux qui est déterminée sans effectuer l'étape de réduction.

Remarques

– Dans le but d'éviter une contamination entre les échantillons, le temps de rinçage de la sonde entre deux échantillons consécutifs doit être égal au double du temps de prélèvement d'un échantillon.

– Si la concentration en nitrites est élevée par rapport à celle des nitrates, le calcul par différence est susceptible d'entraîner des erreurs.

– Une eau riche en matières en suspension peut entraîner un encrassement rapide de la colonne de réduction.

– La réduction des nitrates en nitrites ne sera que partielle si le *p*H est inférieur à 4,5.

– La présence de chlore peut entraîner une désactivation de la colonne de réduction.

7.38.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

ISO 7890-3 (décembre 1998). Qualité de l'eau – Essais des eaux – Dosage des nitrates – Partie 3 méthode spectrométrique avec l'acide sulfosalicylique.

NF EN ISO 10304-1 (juillet 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthodes applicables pour les eaux faiblement contaminées.

NF EN ISO 13395 (octobre 1996) Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et l'azote nitrique et la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique (indice de classement T 90-012).

7.39 Nitrite (limite de qualité « Eau potable »)

Suivant l'origine des eaux, la teneur en nitrites est assez variable. La méthode à la sulfanilamide a une sensibilité de l'ordre de quelques microgrammes par litre. Il sera nécessaire d'en tenir compte pour l'interprétation des résultats et de prendre toutes précautions utiles pour la pureté des réactifs et la propreté de la verrerie.

Sous l'action des phénomènes biologiques, l'équilibre entre l'ammoniaque, les nitrites et les nitrates peut évoluer rapidement. Il convient donc de procéder au dosage des nitrites le plus tôt possible après le prélèvement en le conservant à 4 °C.

Se reporter au § A-7.38 (Nitrate).

7.39.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

La diazotation de l'amino-4-benzènesulfonamide par les nitrites en milieu acide et sa copulation avec le dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrométrique.

Se reporter au § A-7.1.1.

□ Réactifs

– Acide orthophosphorique (d = 1,70).

– Réactif de diazotation :

amino-4-benzènesulfonamide		40 g
dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane		2 g
acide orthophosphorique (d = 1,7)		100 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Mélanger dans un bécher 800 mL d'eau déionisée et 100 mL d'acide phosphorique, ajouter l'amino-4-benzènesulfonamide puis après dissolution, ajouter le dichlorure de *N*-(naphtyl-1)

diamino-1,2 éthane. Agiter jusqu'à complète dissolution. Transvaser la solution dans une fiole jaugée de 1 000 mL, ajuster le volume avec de l'eau déionisée, mélanger.

Conservée au réfrigérateur, cette solution est stable un mois.

– Solution mère étalon d'azote nitreux (NO_2) à 100 mg/L :

nitrite de sodium		492,8 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conservée en flacon de verre inactinique, cette solution est stable un mois.

– Solution fille étalon d'azote nitreux (NO_2) à 1 mg/L :

Diluer au 1/100 la solution précédente avec de l'eau déionisée. À préparer extemporanément.

Établissement de la courbe d'étalonnnage

Introduire dans une série de fioles jaugées de 50 mL :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon à 1 mg/L (mL)	0	1	2,5	5	7,5	10
Eau déionisée (mL)	50	49	47,5	45	42,5	40
Correspondance en milligrammes par litre d'azote nitreux (NO_2)	0	0,02	0,05	0,1	0,15	0,20
Réactif de diazotation (mL)	1	1	1	1	1	1

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 543 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 50 mL d'eau à analyser dans une fiole jaugée puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en azote nitreux (NO_2), exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La coloration est stable 2 heures. La courbe d'étalonnage peut être établie jusqu'à 1 mg/L de NO_2 .

– Après ajout du réactif de diazotation, le *p*H de la solution doit être de 1,9 ± 0,1. En présence d'une eau d'alcalinité élevée, réduire le volume de la prise d'essai, ajouter un excès de solution d'acide phosphorique 1,5 mol/L avant de compléter le volume à 50 mL avec de l'eau déionisée.

– En présence d'échantillons dont la coloration est susceptible d'interférer lors de la mesure de l'absorbance, traiter une deuxième prise d'essai par 1 mL de solution d'acide phosphorique à 1,5 mol/L.

7.39.2 Méthode par flux continu

Principe

Les nitrites sont déterminés par spectrométrie après diazotation avec la sulfanilamide et copulation avec la *N*-1 naphtyléthylènediamine.

Se reporter au § A-7.1.2.

Réactifs

– Réactif spécial :

acide phosphorique		100 mL
sulfanilamide		40 g
dichlorhydrate de *N*-1 naphtyléthylènediamine		20 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conservée en flacon brun, à l'obscurité, cette solution est stable plusieurs mois.

– Solution mère étalon d'azote nitreux à 1 g/L :

nitrite de potassium		6,072 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL
chloroforme		2 mL

– Solution fille étalon d'azote nitreux à 10 mg/L :

Diluer au 1/100 la solution mère.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille étalon une série de dilutions comprises entre 0 et 4 mg d'azote nitreux. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation.

La cadence des déterminations est de 20 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 108 secondes pour des prises d'échantillon de 72 secondes. Faire fonctionner l'appareillage avec les réactifs et de l'eau déionisée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures à 520 nm.

Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en azote nitreux exprimée en milligrammes par litre.

Remarque

Dans le cas d'eau de mer, préparer les solutions étalons avec de l'eau de mer artificielle.

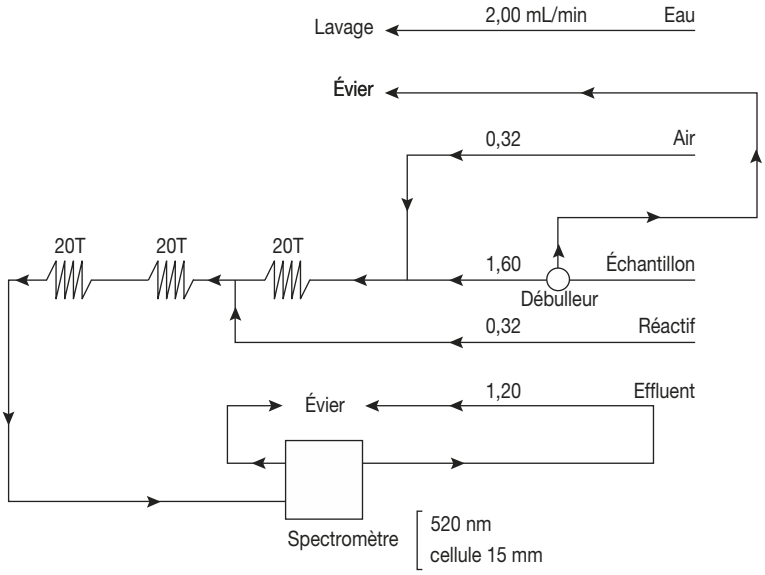


Schéma d'utilisation

7.39.3 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

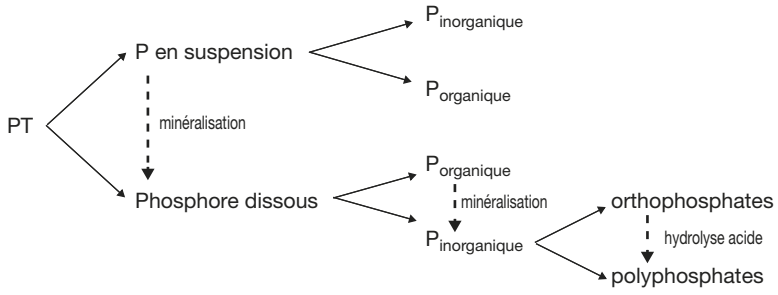
NFT EN 26777 (mai 1993) – Qualité de l'eau – Dosage des nitrites – Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire (indice de classement T90-013).

NF EN ISO 10304-1 (juillet 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthodes applicables pour les eaux faiblement contaminées.

NF EN ISO 13395 (octobre 1996) Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et l'azote nitrique et la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique (indice de classement T 90-012).

7.40 Phosphate

Le phosphore peut exister dans les eaux à l'état dissous ou en suspension. Le phosphore total dissous comprend le phosphore organique (§A-9.7.2) et le phosphore inorganique qui lui-même inclut les orthophosphates et les polyphosphates (§A-9.7.1).



Les composés phosphorés qui, sans hydrolyse ou minéralisation, répondent au test spectrométrique sont considérés comme étant des orthophosphates, dont la teneur peut être exprimée en mg/L de P, de PO_4^{3-} ou de P_2O_5.

$$1 \text{ mg/L } PO_4^{3-} = 0{,}747 \text{ mg/L } P_2O_5 = 0{,}326 \text{ mg/L P.}$$

Les orthophosphates ne sont pas (ou rarement) dans les eaux sous forme PO_4^{3-} qui est la base finale des trois équilibres suivants de l'acide phosphorique :

$$H_3PO_4 \leftrightarrow H_2PO_4^- + H^+ \quad pK_a \text{ (25 °C)} = 2{,}12$$

$$H_2PO_4^- \leftrightarrow HPO_4^{2-} + H^+ \quad pK_a \text{ (25 °C)} = 7{,}21$$

$$HPO_4^{2-} \leftrightarrow PO_4^{3-} + H^+ \quad pK_a \text{ (18 °C)} = 12{,}67$$

Aux pH des eaux naturelles (entre 7 et 8) les orthophosphates sont sous formes $H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-} principalement.

7.40.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium, les orthophosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue susceptible d'un dosage spectrométrique. Certaines formes organiques pouvant être hydrolysées au cours de l'établissement de la coloration et donner des orthophosphates, le développement de la coloration est accélérée par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double d'antimoine et de potassium.

☐ Réactifs

– Solution d'acide sulfurique (*d* = 1,84) à 15 % environ en volume.

– Solution de molybdate d'ammonium à 40 g/L.

molybdate d'ammonium tétrahydraté		20 g
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

Filtrer si nécessaire, à conserver en flacon de polyéthylène à 4 °C.

– Solution d'acide ascorbique à 20 g/L :

acide ascorbique		2 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

À préparer chaque jour.

– Solution de tartrate double d'antimoine et de potassium à 2,8 g/L :

tartrate double d'antimoine et de potassium		0,28 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Réactif combiné :

solution d'acide sulfurique		50 mL
solution de tartrate double d'antimoine et de potassium		5 mL
solution de molybdate d'ammonium		15 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Conserver le réactif au réfrigérateur à 4 °C.

– Solution mère étalon à 50 mg/L de phosphore :

dihydrogénophosphate de potassium desséché au préalable à l'étuve à 100 °C		219,7 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Acidifier la solution par 1 mL d'acide sulfurique à 15 % avant d'ajuster le volume.

– Solution fille étalon à 1 mg/L de phosphore.

Diluer au 1/50 la solution précédente avec de l'eau déionisée au moment de l'emploi.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire dans une série de fioles jaugées de 25 mL :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon de phosphore à 1 mg/L (mL)	0	1	5	10	15	20
Eau déionisée (mL)	20	19	15	10	5	0
Correspondance en milligrammes de phosphore	0	0,001	0,005	0,010	0,015	0,020

Introduire dans chaque fiole 1 mL de solution d'acide ascorbique, agiter, puis ajouter 4 mL de réactif, mélanger soigneusement, compléter éventuellement le volume à 25 mL. Attendre 30 minutes la stabilisation de la coloration et effectuer les mesures au spectromètre à la longueur d'onde de 700 ou 800 nm en cuve de 1 cm. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Vérifier le *p*H de l'échantillon qui doit être compris entre 2 et 7, l'ajuster si nécessaire. Introduire 20 mL d'eau dans une fiole jaugée de 25 mL, ajouter 1 mL de solution d'acide ascorbique puis poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

La courbe donne la teneur en phosphore, exprimée en milligrammes pour la prise d'essai.

Remarques

– Vérifier que les filtres utilisés ne contiennent pas de phosphates.

– L'arsenic à la valence 5 interfère ; cette interférence est éliminée par réduction de l'arsenic à la valence 3. Celle-ci est obtenue en ajoutant à 15 mL d'échantillon 2,5 mL d'une solution réductrice fraîchement préparée à partir de :

20 mL d'acide sulfurique 5 *N*,

40 mL de solution de disulfite de sodium à 100 g/L,

40 mL de solution de thiosulfate de sodium à 10 g/L.

Attendre 15 minutes après addition de la solution réductrice. Compléter le volume à 20 mL. Procéder au dosage sur cette solution.

– Les autres composés susceptibles d'interférer : SiO_2 - Fe (III) - Hg (II) - V (V) - Cr (VI) - Cl^- - NO_2^-, sont généralement présents dans les eaux à des concentrations où l'interférence n'intervient pas.

– La sensibilité de la méthode peut être augmentée en extrayant la coloration par un solvant (isobutanol) ou en utilisant des cuves de 50 mm ; dans ce cas, préparer une gamme comprise entre 0 et 0,200 mg/L de phosphore avec une solution fille étalon à 0,2 mg/L de phosphore en prélevant 4 mL de solution mère et en complétant à 1 000 mL avec de l'eau déionisée.

7.40.2 Méthode par flux continu

■ Principe

Adaptation de la méthode basée sur la formation d'un complexe phosphomolybdique en milieu acide, en présence de molybdate d'ammonium et d'orthophosphates puis réduction de celui-ci par l'acide ascorbique avec le tartrate double d'antimoine et de potassium comme catalyseur.

□ Réactifs

– Solution d'acide sulfurique 5 *N* :

acide sulfurique (*d* = 1,84)		70 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

Verser environ 70 mL d'acide sulfurique dans un bécher contenant 400 mL d'eau. Agiter, laisser refroidir, puis ajuster le volume à 500 mL.

– Brij 35 [polyoxyéthylène (23) lauryl éther].

– Solution de tartrate double d'antimoine et de potassium :

tartrate double d'antimoine et de potassium		0,3 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Conserver cette solution en verre inactinique et au réfrigérateur.

– Solution de molybdate d'ammonium :

molybdate d'ammonium, 4 H_2O		4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution d'acide ascorbique :

acide ascorbique		1,76 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

À préparer chaque jour.

– Réactif :

Mélanger en les introduisant :

solution d'acide sulfurique 5 *N*	100 mL
solution de tartrate double d'antimoine et de potassium	10 mL
solution de molybdate d'ammonium	30 mL
solution d'acide ascorbique	60 mL

Cette solution est stable 4 heures environ.

– Solution mère étalon à 200 mg/L de phosphore :

dihydrogénophosphate de potassium déshydraté		0,877 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– solution fille étalon à 2 mg/L de phosphore.

Diluer au 1/100 la solution précédente avec de l'eau déionisée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille étalon une série de dilutions comprises entre 0 et 0,2 mg/L de phosphore. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation (voir page suivante). Neutraliser les échantillons en présence de phénolphtaléine par une solution d'hydroxyde de sodium ou d'acide sulfurique. Régler la température du bain-marie à 50 °C et le temps de rinçage à 1 min pour une prise d'échantillon de 1 min. Faire fonctionner l'appareillage avec les réactifs et de l'eau permutée jusqu'à obtention d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures au spectromètre à 650 nm.

■ Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en phosphore exprimée en milligrammes par litre.

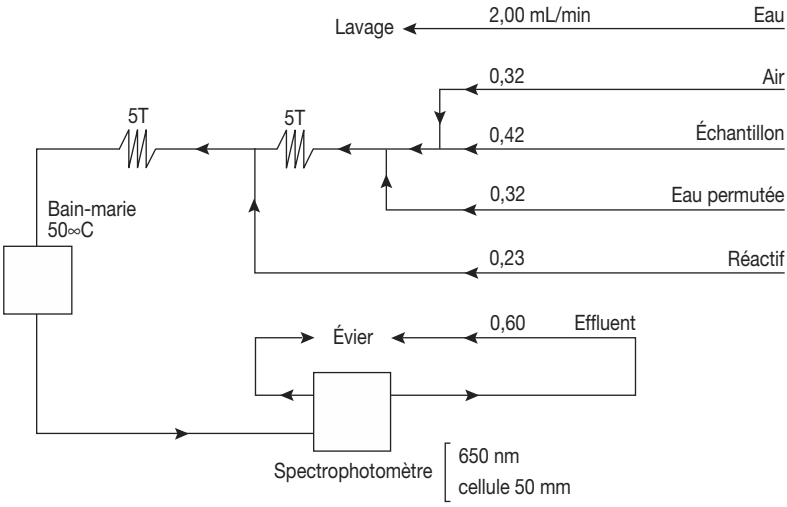


Schéma d'utilisation

7.40.3 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

NF EN ISO 10304-1 (juin 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthode applicable pour les eaux faiblement contaminées (indice de classement T90-042).

NF EN ISO 6878 (avril 2005) Qualité de l'eau – Dosage du phosphore – Méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium (indice de classement T 90-023).

NF EN ISO 15681-1 (mai 2005). Qualité de l'eau – Dosage des orthophosphates et du phosphore total par analyse en flux (FIA et CFA) – Partie 1 : méthode par analyse avec injection en flux (FIA). (Indice de classement T90-083-1).

NF EN ISO 15681-2 (juin 2005). Qualité de l'eau – Dosage des orthophosphates et du phosphore total par analyse en flux (FIA et CFA) – Partie 2 : méthode par analyse en flux continu (CFA). (Indice de classement T90-083-2).

7.41 Plomb (limite de qualité « Eau potable »)

La teneur en plomb dans les eaux de distribution s'explique fréquemment par la présence de ce métal dans les canalisations ou dans les vannes ou autres accessoires que l'on trouve dans les réseaux. Plusieurs facteurs doivent être pris en compte, comme le *p*H, le *TAC*, et la température de l'eau. Le plomb peut se trouver sous plusieurs formes : soluble, particulaire

et dépôt instable. Dans ces conditions et compte tenu de l'hétérogénéité de la teneur en plomb dans le temps, il y a lieu de prendre un certain nombre de précautions lors du prélèvement ; il convient de se rappeler qu'une canalisation de 20 mm de diamètre sur 100 m de longueur représente un volume d'environ 30 litres. Aussi, si l'on veut vider la canalisation interne d'un immeuble pour obtenir la qualité représentée par le réseau public, il faudra prendre la précaution de faire couler l'eau pendant plusieurs minutes. Il est recommandé dans ce cas de faire le prélèvement en deux temps :

– Opérer un prélèvement sur les premières fractions obtenues après stagnation de l'eau dans la canalisation pendant une nuit, par exemple ;

– Faire couler un volume d'eau permettant d'atteindre directement le réseau public (5 minutes à plein débit, par exemple).

Par ailleurs, et conformément à l'arrêté du 31 décembre 2003, le dosage du plomb doit, dans le cas d'un contrôle sanitaire réglementaire, être réalisé sur un prélèvement d'un litre d'eau soutiré en une seule fois sans réalisation préalable de purges des installations de distribution d'eau.

Il est alors possible :

– soit de doser le plomb total sur les deux prélèvements, après acidification avec de l'acide nitrique à 1 % ;

– soit de doser le plomb particulaire : pour cela, filtrer l'eau sous pression avec un filtre de 0,45 µm ; acidifier le filtrat avec de l'acide nitrique à 1 % et doser le plomb soluble. La différence entre le plomb total et le plomb soluble correspond au plomb particulaire. L'examen des résultats permet d'apprécier l'origine de la contamination.

7.41.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

Se reporter au § A-7.1.5.

– Solution mère étalon de plomb à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du plomb par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (§ A-7.41.3).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 283,3 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 30 µg/L.

– La complexation du plomb avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations dosables comprises entre 1 et 200 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (A-7.26).

7.41.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ **Matériel spécial**

Se reporter au § A-7.1.5.

□ **Réactifs**

– Acide nitrique (*d* = 1,38).
– Solution d'acide phosphorique à 0,2 %.
– Solution mère de plomb à 1 g/L :

plomb		1 g
acide nitrique		60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon de plomb à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure (acidifiée à pH < 2 avec l'acide nitrique) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Ajouter à 100 mL d'échantillon (acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique) 20 µL de solution d'acide phosphorique. Injecter dans le four graphite 10 µL. Sécher à 120 °C pendant 40 secondes, minéraliser (pyrolyse) à une température comprise entre 600 °C (sans modificateur) et 1 200 °C (avec modificateur) pendant 45 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 1 500 °C (sans modificateur) et 2 000 °C (avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 283,3 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 0,5 µg/L.

– Le palladium ou le magnésium peuvent être utilisés comme modificateurs de matrice

7.41.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de plomb à 100 mg/L :

nitrate de plomb [Pb $(NO_3)_2$]		159,8 mg
acide nitrique dilué au demi	*q.s.p.*	dissoudre
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le nitrate de plomb dans un minimum d'acide nitrique au demi. Ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré et ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Se reporter au § A-7.1.6.

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 220,35 nm ou 283,3 nm en ICP ou sur les isotopes 207 ou 208 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 5 µg/L en ICP et de 0,005 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

FD T90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 8 éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme.

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.42 Plutonium

Se reporter au § A-8.4.2.

7.43 Potassium

La méthode de dosage du potassium par spectrométrie d'émission de flamme est souvent suffisante pour les eaux naturelles. Les faibles concentrations sont mésurables par la spectrométrie d'absorption atomique et spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma sont sensibles, rapides et précises.

7.43.1 Méthode par spectrométrie d'émission de flamme

Se reporter au dosage simultané du sodium et du potassium par spectrométrie d'émission de flamme (A-7.47.1).

7.43.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide nitrique.

– Solution mère étalon de potassium à 100 mg/L :

chlorure de potassium déshydraté		190,7 mg
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon de potassium à 2 mg/L.

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau déionisée ou ultra-pure (acidifiée à pH < 2 par de l'acide nitrique) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Nébuliser l'eau à analyser dans une flamme air-acétylène légèrement oxydante en intercalant de l'eau ultra-pure entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 766,5 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– Une teneur en sodium supérieure à celle du potassium peut interférer ; dans ce cas ajouter aux solutions étalons du sodium en quantité correspondant à celle de l'échantillon.

– Le lithium et le césium sont susceptibles d'accroître l'absorption surtout en présence d'une flamme à haute température, il convient alors d'agir sur le brûleur et sur le type de flamme.

7.43.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de potassium à 100 mg/L :

chlorure de potassium (KCl) déshydraté		190,7 mg
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 766,49 nm en ICP ou sur l'isotope 39 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 20 µg/L en ICP et 10 µg/L ICP/MS.

7.43.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Qualité de l'eau – Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires (indice de classement T90-048).

AFNOR NF T 90-019 (août 1984). Essais des eaux – Dosage du sodium et du potassium – Méthode par spectrométrie d'émission de flamme.

AFNOR NF T 90-020 (août 1984). Essais des eaux – Dosage du sodium et du potassium – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique.

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.44 Radium

Se reporter au § A-8.4.4.

7.45 Sélénium (limite de qualité « Eau potable »)

L'état de valence du sélénium retrouvé dans les eaux est mal connu ; il est fonction de son origine, celle-ci pouvant être liée au lessivage naturel des sols ou à des rejets industriels (séléniates, sélénites, séléniures…) ; par ailleurs, il existe aussi des composés organiques tels que les acides séléno-aminés, le diméthylsélénium, le triméthylsélénium.

7.45.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide nitrique (d = 1,38).

– Solution de nitrate de nickel :

nitrate de nickel [Ni $(NO_3)_2$, 6 H_2O]		20 g
solution d'acide nitrique à 2 %	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon de sélénium à 1 g/L :

séléniate de sodium (Na_2SeO_4 , 10 H_2O)		4,673 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure (acidifiée à pH $<$ 2 par l'acide nitrique) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Ajouter à 100 mL d'échantillon (acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique) 2 mL de solution de nitrate de nickel. Injecter 50 µL dans le four graphite. Sécher

à 150 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à une température de 1 000 °C pendant 20 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 2 800 °C pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 196,03 nm.

Se reporter au § A-7.1.5.

Remarques

– La limite de détection est de 1 µg/L.

– Le palladium ou le magnésium peuvent être aussi utilisés comme modificateurs de matrice.

7.45.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure

■ Principe

Après réduction du sélénium (VI) en sélénium (IV) par l'acide chlorhydrique, le sélénium (IV) est réduit à l'état d'hydrure H_2Se par le borohydrure de sodium. L'hydrure libéré dans le réacteur est entraîné par un gaz vecteur soit dans la flamme argon hydrogène d'un spectromètre d'absorption atomique, soit après piégeage, vers un spectromètre d'absorption atomique équipé d'un four graphite.

□ **Matériel spécial**

– Générateur d'hydrure.

– Ballon à col rodé de 250 mL équipé d'un réfrigérant ascendant.

– Agitateur magnétique.

– Spectromètre d'absorption atomique équipé d'une lampe à cathode creuse de sélénium ou d'une lampe à décharge (lampe EDL), d'une lampe au deutérium pour la correction du bruit de fond et d'un tube en silice chauffé soit par un mélange air-acétylène soit électriquement.

Se reporter au § A-7.1.5.

□ **Réactifs**

– Gaz vecteur : argon ou azote.

– Acide chlorhydrique dilué au 1/2.

– Pastilles de borohydrure de sodium.

– Acide phosphorique.

– Solution mère étalon de sélénium à 1 g/L :

séléniate de sodium (Na_2SeO_4 , 10 H_2O)		4,673 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de sélénium à 10 mg/L.

– Solution fille étalon de sélénium à 0,1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 40 µg/L).

Mode opératoire

Réduction du sélénium

Introduire dans un ballon à col rodé 50 mL d'échantillon et 25 mL d'acide chlorhydrique à 50 %, adapter le réfrigérant et effectuer la réduction du sélénium sous reflux, en chauffant à 70 °C pendant 10 min environ.

Détermination du sélénium

Introduire 20 mL de la solution obtenue après réduction dans le générateur d'hydrure, ajouter 1 mL d'acide phosphorique, 1 mL d'acide chlorhydrique et un barreau aimanté recouvert de téflon. Laisser stabiliser 40 secondes sous courant d'azote ou d'argon puis agiter 20 secondes en plaçant le flacon sur agitateur magnétique, maintenir l'agitation et introduire une pastille de borohydrure de sodium. Mettre le générateur en communication avec le spectromètre d'absorption atomique. Entraîner l'hydrure de sélénium au moyen du gaz vecteur à un débit de 1 à 3 mL/min dans le tube en silice chauffé dans le brûleur air-acétylène ou électriquement. Travailler en correction de bruit de fond, intégrer pendant 45 s. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 196,03 nm.

Remarque

La limite de détection est de 0,5 µg/L.

7.45.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

Réactifs

– Solution mère étalon de sélénium (VI) à 1 g/L :

séléniate de sodium (Na_2SeO_4)		2,393 g
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le séléniate de sodium dans de l'eau additionnée de 10 mL d'acide nitrique. Après dissolution, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 196,03 nm en ICP et sur les isotopes 77,78 ou 82 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 20 µg/L en ICP et de 0,1 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.46 Silicate soluble (orthosilicate) et silice totale

La silice peut exister dans les eaux sous deux états différents : soluble et colloïdal. La silice et les silicates sont peu solubles dans l'eau ; ce sont les orthosilicates, bases conjuguées de l'acide silicique qui sont les espèces solubles les plus présentes.

$$Si\,(OH)_4 \text{ (ou } H_4SiO_4) \leftrightarrow SiO\,(OH)_3^- \text{ (ou } H_3SiO_4^-) + H^+ \quad pK_a = 9{,}5 \text{ (25 °C)}$$

$$SiO\,(OH)_3^- \text{ (ou } H_3SiO_4^-) \leftrightarrow SiO_2\,(OH)_2^{2-} \text{ (ou } H_2SiO_4^{2-}) + H^+ \quad pK_a = 12{,}6 \text{ (25 °C)}$$

La silice soluble dans les eaux naturelles est donc majoritairement sous forme H_4SiO_4 (ou $Si\,(OH)_4$).

Ce choix de la méthode de dosage est fonction de la teneur en silice. La méthode gravimétrique qui englobe les deux formes silice et silicate est à réserver pour des eaux contenant plusieurs dizaines de milligrammes de silice par litre. La méthode spectrométrique s'applique à la forme ionique orthosilicate et convient pour des teneurs de quelques milligrammes par litre. Pour des teneurs plus élevées, il est nécessaire de pratiquer des dilutions.

La méthode automatisée est conseillée en présence d'un grand nombre d'échantillons analysés régulièrement.

La méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme dose la silice dissoute et une partie de la silice colloïdale ; son utilisation pour la silice totale est à déconseiller. La méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma dose la silice totale.

Pour le prélèvement utiliser des flacons en polyéthylène.

Il a été noté que pour des eaux riches en silice, et conservées très longtemps, il pouvait y avoir adsorption sur les parois.

7.46.1 Méthode gravimétrique(*)

■ Principe

La silice est insolubilisée à l'état partiellement déshydraté en présence d'acide chlorhydrique. Une minéralisation complète la déshydratation. Par action de l'acide fluorhydrique, la silice est volatilisée sous forme d'acide fluosilicique. Après une nouvelle minéralisation, la perte de masse correspond à la quantité de silice pure contenue dans l'eau.

7.46.2 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au molybdate d'ammonium

■ Principe

L'anhydride silicique donne avec le molybdate d'ammonium à *p*H 1,2 une coloration jaune due à l'acide silico-molybdique ; celui-ci peut être réduit en anhydride silico-molybdique de coloration bleue.

□ **Réactifs**

– Utilisez l'eau ultra-pure (exempte de silice).

– Solution de molybdate d'ammonium à 100 g/L :

molybdate d'ammonium pur $(NH_4)_6\,Mo_7O_{24}$, 4 H_2O		10 g
eau ultra-pure		80 mL
ammoniaque pure *q.s.p.* ajuster le *p*H à 7-8		
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

Ce réactif est stable indéfiniment si le *p*H est ajusté.

– Solution d'acide chlorhydrique au 1/2 :

acide chlorhydrique (*d* = 1,19)	1 volume
eau ultra-pure	1 volume

– Solution d'acide sulfurique *N*.

– Hydrogénocarbonate de sodium pur.

– Solution d'acide oxalique à 10 %.

– Solution d'acide amino-naphtol-sulfonique :

acide amino-naphtol-sulfonique	0,5 g
sulfite de sodium anhydre	1 g
hydrogénosulfite de sodium	30 g

Dissoudre l'acide amino-naphtol-sulfonique et le sulfite de sodium dans 50 mL d'eau ultra-pure. Ajouter une solution de 30 g d'hydrogénosulfite de sodium dans 200 mL d'eau ultra-pure. Ce réactif est instable. Il donne des courbes de sensibilité différentes dans le temps, aussi est-il recommandé d'accompagner chaque dosage de l'établissement de la courbe d'étalonnage.

– Solution étalon de dioxyde de silicium à 100 mg/L.

Peser exactement 0,05 g de silice pure séchée à 160 °C. Mélanger dans une capsule de platine avec 2 g d'hydrogénocarbonate de sodium pur. Chauffer jusqu'à fusion complète. Refroidir alors la capsule et dissoudre le résidu dans de l'eau ultra-pure. Transvaser dans une fiole de 500 mL. Ajuster le volume à 500 mL.

– Solution étalon de dioxyde de silicium à 5 mg/L.

Diluer au 1/20 la solution précédente.

Pour toutes les dilutions, utiliser de l'eau ultra-pure exempte de silice.

(*) Cf. suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 125 mL introduire successivement :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V	VI	VII
Solution étalon de dioxyde de silicium à 5 mg/L (mL)	0	5	10	20	40	60	80	100
Eau ultra-pure (mL)	100	95	90	80	60	40	20	0
Correspondance en mg/L de dioxyde de silicium	0	0,25	0,50	1	2	3	4	5
Molybdate d'ammonium (mL)	4	4	4	4	4	4	4	4
Acide chlorhydrique (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2
	Agiter et attendre 5 minutes							
Acide oxalique (mL)	10	10	10	10	10	10	10	10
	Agiter et attendre 2 minutes							
Acide amino-naphtol-sulfonique (mL)	4	4	4	4	4	4	4	4

Compléter le volume de chaque fiole à 125 mL avec de l'eau ultra-pure. Attendre 15 minutes la stabilisation de la coloration et effectuer les mesures au spectromètre à la longueur d'onde de 610 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Silice dissoute

Dans deux fioles jaugées de 125 mL, introduire successivement :

Numéro des fioles	A	B
Eau à analyser (mL)	100	–
Eau ultra-pure (mL)	–	100
Molybdate d'ammonium (mL)	4	4
Acide chlorhydrique (mL)	2	2
	Agiter et attendre 5 minutes	
Acide oxalique (mL)	10	10
	Agiter et attendre 2 minutes	
Acide amino-naphtol-sulfonique (mL)	4	4

Compléter le volume des deux fioles à 125 mL avec de l'eau ultra-pure. Attendre 15 minutes la stabilisation de la coloration et effectuer les lectures

au spectromètre à la longueur d'onde de 610 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Silice totale

Lorsque l'eau après filtration présente un aspect opalescent laissant supposer la présence de silice colloïdale, opérer dans les conditions suivantes afin de doser la totalité de la silice.

Chauffer pendant 1 heure 100 mL d'eau à analyser additionnée de 1 g d'hydrogénocarbonate de sodium. Ajouter ensuite 2 mL de solution d'acide sulfurique *N*. Laisser refroidir et compléter le volume à 100 mL avec de l'eau ultra-pure. Opérer ensuite de la même manière que précédemment. Toutefois, le témoin *B* doit être additionné de 1 g d'hydrogénocarbonate de sodium et de 2 mL d'acide sulfurique *N*.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL la courbe donne directement la teneur en silice, exprimée en milligrammes de dioxyde de silicium par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 0,02 mg/L.

– La lecture à 815 nm augmente la sensibilité de la mesure.

– Éviter l'emploi de récipients susceptibles d'agir sur la teneur en silice de l'eau.

– La turbidité et la coloration de l'eau peuvent gêner la mesure.

– L'interférence due aux phosphates est éliminée par l'addition d'acide oxalique qui détruit l'acide molybdophosphorique. Toutefois si la quantité de P_2O_5 est supérieure à 10 mg/L, il convient d'augmenter la quantité de solution de molybdate d'ammonium. Mais le dosage n'est plus possible au-delà de 50 mg/L de P_2O_5.

– Le temps nécessaire à ce dosage peut être diminué en pratiquant la lecture de la coloration jaune liée au molybdate d'ammonium. Mais la stabilité de la teinte est limitée si l'on n'opère pas la mesure entre 2 et 15 minutes après l'addition de l'acide oxalique. Cette méthode simplifiée peut être utilisée pour des teneurs de silice comprises entre 1 et 20 mg/L.

– Les eaux fortement minéralisées doivent être préalablement diluées.

– Le fer interfère au-delà de 5 mg/L. Acidifier l'échantillon par l'acide chlorhydrique et faire une extraction par un mélange à parties égales de chloroforme et d'acétylacétone.

7.46.3 Méthode par flux continu (méthode CFA)

■ Principe

Les silicates solubles réagissent en milieu acide avec le molybdate d'ammonium pour former un composé silicomolybdique qui, réduit en bleu de molybdène, est susceptible d'un dosage spectrométrique.

Se reporter au § A-7.1.2.

□ Réactifs

– Utiliser de l'eau ultra-pure (exempte de silice).

– Solution sulfurique 5 *N* :

acide sulfurique (*d* = 1,84)		136 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution de molybdate d'ammonium :

molybdate d'ammonium ($NH_4)_6$ Mo_7O_{24} , 4 H_2O		10 g
solution d'acide sulfurique 5 *N*		40 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le molybdate d'ammonium dans 500 mL d'eau ultra-pure, ajouter l'acide chlorhydrique, compléter le volume à 1 litre.

Conserver la solution en flacon de polyéthylène, à l'abri de la lumière au réfrigérateur.

– Solution d'acide oxalique :

acide oxalique		7 g
acide sulfurique au demi (V/V)		100 mL
Brij 35 (polyoxyéthylène (23) lauryl éther)		1 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Conserver cette solution en flacon de polyéthylène au réfrigérateur.

– Solution réductrice :

métol [sulfate de 4 (méthylamino) phénol]		10 g
sulfate de sodium		12 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Conserver cette solution en flacon de polyéthylène, à l'abri de la lumière et au réfrigérateur, la renouveler tous les mois.

– Solution mère étalon de silice à 100 mg/L de dioxyde de silicium :

métasilicate de sodium (Na_2SiO_3 , 9 H_2O)		0,473 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Conserver cette solution au réfrigérateur, en flacon de polyéthylène.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution mére, des dilutions dans l'eau ultra-pure, couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 15 mg/L SiO_2).

■ Mode opératoire

Se reporter au schéma d'utilisation (voir page suivante). La cadence des déterminations est de 30 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 1 minute pour une prise d'échantillon de 1 minute. Faire fonctionner l'appareil avec les réactifs et de l'eau ultra-pure jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures au spectromètre à 660 nm.

Se reporter au § A-7.1.2.

■ Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en silice exprimée en milligrammes de dioxyde de silicium par litre.

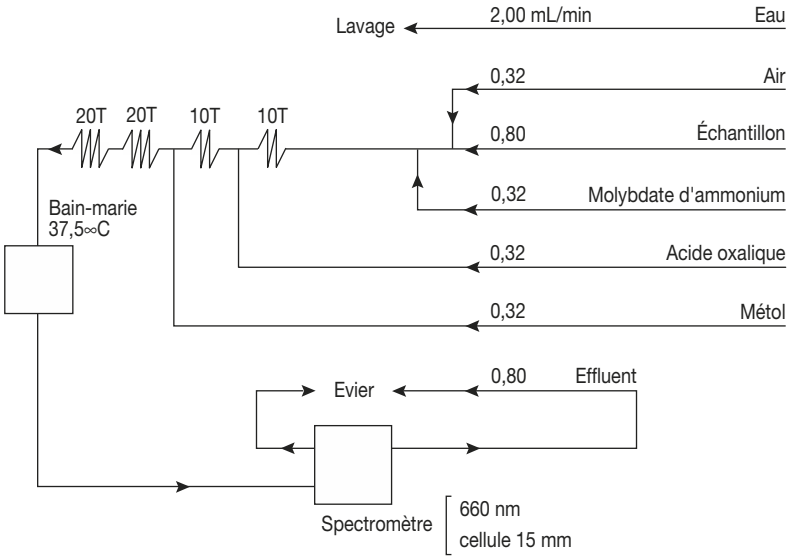


Schéma d'utilisation

Remarques

– La ligne de base est réalisée avec de l'eau-ultra pure sans brij 35.

– D'autres réducteurs que le métal peuvent être utilisés pour réduire le complexe silicomolybdique comme une solution de chlorure d'étain (méthode CFA) ou l'acide ascorbique (méthode CFA).

7.46.4 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de dioxyde de silicium à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage de la silice par spectromètre d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (A-7.46.5).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 251,6 nm.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes de dioxyde de silicium par litre.

> **Remarque**
> La limite de détection est de 200 µg/L.

7.46.5 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

Réactifs

– Solution mère étalon de dioxyde de silicium à 100 mg/L :

silicate de sodium Na_2SiO_3 , 9 H_2O	473 mg
acide nitrique concentré	10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le silicate de sodium dans l'eau ultra-pure, ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré et ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau ultra-pure.

Conserver en flacon de polyéthylène.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 251,61 nm.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 10 µg/L.

Méthodes de référence

NFT 90-007 (février 2001) Qualité de l'eau – Dosage des silicates solubles – Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire.

NF EN ISO 16264 (août 2004) Qualité de l'eau – dosage des silicates solubles par analyse de flux (FIA et CFA) et détection photométrique (indice de classement T 90-053).

7.47 Sodium (référence de qualité « Eau potable »)

D'une façon générale, la spectrométrie d'émission de flamme est la méthode la plus indiquée pour le dosage du sodium. Elle est à la fois rapide

et sensible. Pour des teneurs inférieures à 50 µg/L, il est possible, en prenant de grandes précautions analytiques, d'utiliser la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme ou encore la méthode par spectrométrie avec plasma à couplage inductif.

Les échantillons doivent, de préférence, être conservés dans des flacons en polyéthylène pour éviter les erreurs par excès dues au sodium en provenance du verre.

7.47.1 Méthode par spectrométrie d'émission de flamme

Cette méthode permet de doser les alcalins (Na, K, Li) et les alcalinoterreux (Ca, BA, Mg, Sr).

Effectuer le dosage le plus rapidement possible après le prélèvement. Si l'échantillon contient des matières en suspension, le filtrer au préalable pour éviter l'encrassement du brûleur.

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.4.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.4.

□ Réactifs

– Acide nitrique.

– Solution étalon de sodium ou de potassium à 1 g/L :

chlorure de sodium pur déshydraté		2,542 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution étalon de potassium à 1 g/L :

chlorure de potassium déshydraté		1,907 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

■ Établissement de la gamme d'étalonnage

Préparer à partir de chacune des solutions étalons quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées.

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.4.

Nébuliser l'échantillon dans une flamme air-acétylène en intercalant de l'eau permutée entre chaque solution. Effectuer les lectures au spectromètre de flamme à la longueur d'onde de 589 nm pour le sodium et 766,5 nm pour le potassium. Régler le zéro de l'appareil avec de l'eau déionisée. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Remarques

– Les limites de détection usuelles sont de 100 µg/L pour le sodium et de 10 µg/L pour le potassium.

– Le calcium, le magnésium, le potassium et le sodium provoquent des interférences positives ou négatives. Elles peuvent être réduites par :

. l'utilisation pour le sodium d'une solution saturée en chlorure de potassium, magnésium et calcium ; pour le potassium, d'une solution saturée en chlorure de sodium, magnésium et calcium ;

. l'utilisation pour la préparation des solutions étalons d'une matrice de même nature que celle des échantillons ;

. l'addition aux solutions étalons et à l'échantillon d'une solution saturée de chlorure de césium.

– De fortes concentrations de chlorures, sulfates et carbonates perturbent le dosage.

– La méthode de dosage par encadrement peut également être appliquée.

7.47.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide nitrique.

– Solution mère étalon de sodium à 100 mg/L.

chlorure de sodium déshydraté	254,2 mg
eau déionisée ou ultra-pure	1 L

– Solution fille étalon de sodium à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étallonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau déionisée ou ultra-pure (acidifiée par acide nitrique à pH < 2) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Nébuliser l'eau à analyser dans une flamme air-acétylène oxydante en intercalant de l'eau permutée entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 589 nm.

Se reporter au § A-7.1.5.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes de sodium par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– La radiation 330,2 nm permet de doser des concentrations de sodium plus élevées sans dilution, sa sensibilité est d'environ 3 mg/L pour 1 % d'absorption.

7.47.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de sodium à 100 mg/L :

chlorure de sodium (NaCl) déshydraté		254,2 mg
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le chlorure de sodium dans de l'eau permutée.

Après dissolution, ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau permutée.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 589,59 nm en ICP ou sur l'isotope 23 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 20 µg/L en ICP et de 5 µg/L en ICP/MS.

7.47.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous. Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires.

AFNOR NF T 90-019 (août 1984). Essais des eaux – Dosage du sodium et du potassium – Méthode par spectrométrie d'émission de flamme.

AFNOR NF T 90-020 (août 1984). Essais des eaux – Dosage du sodium et du potassium – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique.

AFNOR NF EN ISO 11885 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.48 Strontium

La méthode par spectrométrie d'émission de flamme est assez sensible et des conditions opératoires bien adaptées peuvent éliminer les interférences. La spectrométrie d'absorption atomique, aussi sensible, permet le dosage rapide du strontium, en particulier après concentration. Elle est recommandée ainsi que la méthode par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma.

7.48.1 Méthode par spectrométrie d'émission de flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.4.

□ Appareillage

Se reporter au § A-7.1.4.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de strontium à 1 g/L :

carbonate de strontium anhydre, déshydraté		1,685 g
acide chlorhydrique dilué au demi	*q.s.p.*	dissoudre
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Ajouter au carbonate de strontium de l'acide chlorhydrique en quantité juste suffisante pour obtenir la dissolution, puis 200 mL d'eau déionisée. Porter à l'ébullition pour chasser l'anhydride carbonique. Refroidir. Ajuster le *p*H en présence de 5 gouttes de solution de rouge de méthyle soit par de l'hydroxyde d'ammonium 3 *N*, soit par de l'acide chlorhydrique dilué au demi. Ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée.

– Solution fille étalon de strontium à 100 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau déionisée couvrant la gamme de concentrations souhaitées.

■ Mode opératoire

Mélanger des volumes égaux d'eau à analyser et de ces différentes dilutions. Effectuer les lectures au spectromètre de flamme à la longueur d'onde 460,7 nm puis à celle de 454 nm qui permet d'évaluer le fond spectral. Soustraire de chaque unité d'absorbance lue à 460,7 nm la valeur relevée à 454 nm. Sur un graphique, porter en ordonnée les valeurs d'unité

d'absorbance et en abscisse la valeur de la concentration de la dilution correspondante (0, 2, 5 et 10 mg/L). La courbe ainsi tracée coupe l'axe des abscisses.

Se reporter au § A-7.1.4.

Remarque

La limite de détection est de 20 µg/L.

7.48.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Acide chlorhydrique (*d* = 1,19).

– Solution de chlorure de lanthane à 50 g/L.

– Solution mère étalon de strontium à 1 g/L :

carbonate de strontium anhydre, déshydraté	1,685 g
acide chlorhydrique dilué au demi	*q.s.p.* dissoudre
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.* 1 000 mL

Ajouter au carbonate de strontium de l'acide chlorhydrique en quantité juste suffisante pour obtenir la dissolution puis 200 mL d'eau déionisée. Porter à l'ébullition pour chasser l'anhydride carbonique. Refroidir. Ajuster le *p*H en présence de 5 gouttes de solution de rouge de méthyle soit par de l'hydroxyde d'ammonium 3 *N*, soit par de l'acide chlorhydrique dilué au demi. Ajuster le volume à 1 L.

– Solution fille étalon de strontium à 100 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau déionisée ou ultra-pure (acidifiée par 1 mL d'acide chlorhydrique pour 100 mL de volume total) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

À 100 mL d'échantillon, ajouter 10 mL de solution de chlorure de lanthane. Nébuliser la solution dans une flamme air-acétylène réductrice en intercalant de l'eau permutée entre chaque échantillon. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 460,7 nm.

Se reporter au § A-7.1.5.

Remarques

– La limite de détection est de 10 µg/L.

– L'interaction des ions calcium, fer, sodium, potassium est évitée par l'addition de chlorure de lanthane.

7.48.3 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ **Réactifs**

– Solution mère étalon de strontium à 100 mg/L :

carbonate de strontium déshydraté		168,5 mg
acide nitrique dilué au demi	*q.s.p.*	dissoudre
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Mettre le carbonate de strontium en suspension dans l'eau, verser avec précaution une quantité minimum d'acide nitrique dilué au demi. Après dissolution, ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré, ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 407,77 nm en ICP ou sur les isotopes 86 ou 88 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 0,5 µg/L en ICP et 0,02 µg/L en ICP/MS.

7.48.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

7.48.5 Dosage du strontium 90

Se reporter au § A-8.5.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 2008). Qualité de l'eau. – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

AFNOR NF EN ISO 14911 (octobre 1999). Dosage par chromatographie ionique des ions Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+} et Ba^{2+} dissous.

Méthode applicable pour l'eau et les eaux résiduaires (indice de classement T90-048).

7.49 Sulfate (référence de qualité « Eau potable »)

Pour le dosage des sulfates, l'analyste a le choix entre plusieurs méthodes :

– La méthode gravimétrique, longtemps considérée comme une méthode de référence, est d'une mise en œuvre assez longue et fait appel à une certaine expérience de la manipulation. Elle convient à des concentrations supérieures à 10 mg/L.

– Les méthodes néphélométriques, directe ou par flux continu, sont d'une mise en œuvre plus aisée et se prêtent bien à la série. Elles conviennent pour les eaux contenant 5 à 40 mg/L. Cependant, la couleur de l'eau, les matières en suspension, les matières organiques, sont susceptibles de gêner le dosage.

– La méthode par chromatographie ionique convient à des concentrations supérieures à 1 mg/L.

Le titre en sels d'acides forts (SAF ou Taci) permet d'obtenir un excellent ordre de grandeur de la somme « chlorures + sulfates + nitrates » applicable à la plupart des eaux naturelles (cf. § A-5.10).

Pour la conservation des prélèvements, il faut se souvenir que dans des conditions particulières, certains germes peuvent entraîner une réduction des sulfates ; il est donc nécessaire de conserver l'échantillon à 4 °C.

7.49.1 Méthode gravimétrique (*)

Les ions SO_4^{2-} sont précipités à l'état de sulfate de baryum et évalués gravimétriquement.

7.49.2 Méthode néphélométrique

■ Principe

Les sulfates sont précipités en milieu chlorhydrique à l'état de sulfate de baryum. le précipité ainsi obtenu est stabilisé à l'aide d'une solution de Tween 20 ou de polyvinyl-pyrrolidone. Les suspensions homogènes sont mesurées au spectromètre.

□ Réactifs

– Solution d'acide chlorhydrique au 1/10.

– Solution de polyvinyl-pyrrolidone ou de Tween 20 à 25 %.

– Solution de chlorure de baryum stabilisée :

chlorure de baryum ($BaCl_2$, 2 H_2O)	10 g
solution de Tween 20 [polyoxyéthylène (20) sorbitan monolaurate]	

(*) Cf. Suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

ou 5 mL de solution de polyvinyl-pyrrolidone		20 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution étalon de sulfate de sodium à 150 mg/L de SO_4^{2-}:

sulfate de sodium anhydre		0,221 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de tubes numérotés, introduire successivement :

Numéro des tubes	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution étalon de SO_4^{2-} (mL)	0	1	3	5	7	9	10
Eau déionisée (mL)	50	49	47	45	43	41	40
Acide chlorhydrique au 1/10 (mL)	1	1	1	1	1	1	1
Solution de chlorure de baryum stabilisée (mL) 5	5	5	5	5	5	5	
Correspondance en mg/L de SO_4^{2-}	0	3	9	15	21	27	30

Agiter 2 ou 3 fois énergiquement. Après 15 minutes de repos, agiter à nouveau et faire la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 650 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Dans un tube, introduire successivement :

eau à analyser	50 mL
acide chlorhydrique au 1/10	1 mL
solution de chlorure de baryum + Tween 20	
ou solution de chlorure de baryum + PVP	5 mL

Préparer dans les mêmes conditions un tube témoin en remplaçant l'eau à analyser par de l'eau déionisée.

Agiter énergiquement et laisser reposer 15 minutes. Agiter de nouveau et faire les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 650 nm. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 39 mL, la courbe donne directement la teneur en sulfates exprimée en milligrammes de SO_4^{2-} par litre d'eau.

> **Remarque**
>
> La prise d'essai doit contenir une quantité de sulfate inférieure à 2 mg, la courbe représentative étant une droite parfaite pour les teneurs comprises entre 5 et 40 mg/L. Dans le cas d'eaux fortement chargées en SO_4^{2-}, préparer des dilutions en vérifiant chaque fois qu'elles se trouvent dans la zone d'utilisation de la courbe d'étalonnage.

7.49.3 Méthode par flux continu (méthode CFA)

■ Principe

En présence de baryum, les sulfates précipitent à l'état de sulfate de baryum maintenu en suspension homogène au moyen de polyvinylpyrrolidone. Pour éviter la précipitation des carbonates, chromates, phosphates et oxalate de baryum, la réaction est effectuée en milieu acide.

Se reporter au § A-7.1.2.

■ Circuit analytique

– Le chlorure de baryum et l'EDTA tétrasodique sont distribués séquentiellement par le même tube de pompe, de la même façon que l'échantillon et l'eau de rinçage. Il est donc nécessaire de disposer de plateaux à double couronne avec bras de prélèvements à 2 embouts de prélèvements et de 2 cuves de rinçage, l'une pour l'eau de rinçage, l'autre pour l'EDTA tétrasodique.

– La réalisation du dosage nécessite un temps de contact entre l'échantillon et le chlorure de baryum compris entre 30 et 60 secondes. Étant donné la cadence de prélèvement, le chlorure de baryum doit arriver au point de mélange avec l'échantillon entre 30 et 60 secondes avant ce dernier.

Technique adaptée aux teneurs en SO_4^{2-} inférieures à 800 mg/L

□ **Réactifs**

– Solution d'ammoniaque diluée au 1/10, obtenue par dilution de solution concentrée du commerce.

– Solution d'EDTA :

EDTA Na	50 g
solution d'ammoniaque au 1/10	*q.s.p.* 1 L

– Solution de chlorure de baryum :

chlorure de baryum	1 g
polyvinylpyrrolidone	2 g
eau déionisée	*q.s.p.* 500 mL

Placer un flacon de 500 mL contenant 200 mL d'eau sur un agitateur électromagnétique, introduire le chlorure de baryum, le polyvinylpyrrolidone. Mélanger vivement jusqu'à complète dissolution, ajuster le volume à 500 mL. Préparer cette solution chaque jour.

– Solution d'acide phosphorique :

acide phosphorique	3 mL
Brij 35 [polyoxyéthylène (23) lauryl éther]	2,5 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

– Solution étalon à 2 g/L de SO_4^{2-} :

sulfate de sodium anhydre	2,9582 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon une série de dilutions comprises entre 0 et 800 mg/L. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

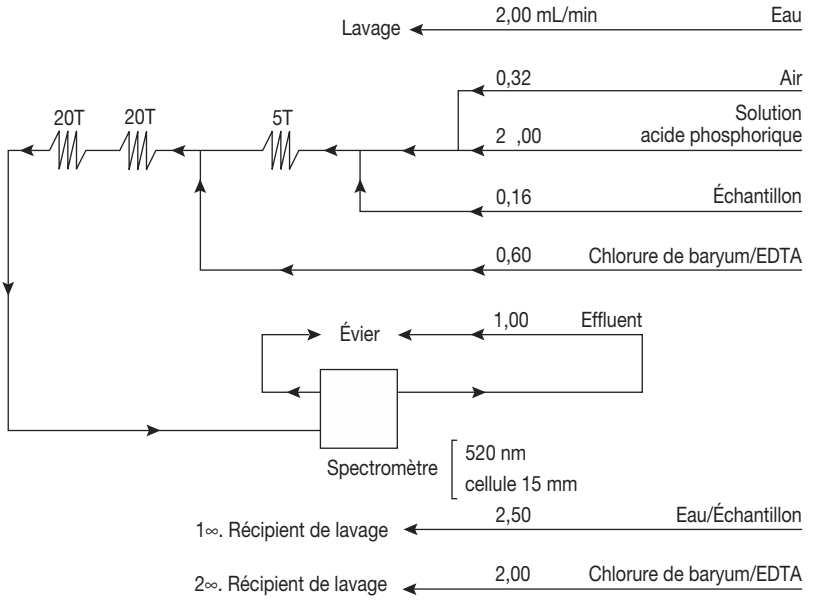


Schéma d'utilisation n° 1, gamme 0 à 800 mg/L

Se reporter au schéma d'utilisation n° 1. La solution d'EDTA est utilisée entre chaque échantillon pour solubiliser le précipité. La cadence des déterminations est de 20 échantillons par heure à raison d'une rinçage de 90 secondes pour une prise d'échantillon de 90 secondes. Faire fonctionner l'appareil avec les réactifs et de l'eau déionisée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 520 nm.

Se reporter au § A-7.1.2.

Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en sulfates exprimée en milligrammes de SO_4^{2-} par litre.

Technique adaptée aux teneurs en SO_4^{2-} inférieures à 10 g/L

☐ **Réactifs**

– Solution d'EDTA et solution de chlorure de baryum : se reporter à la méthode précédente.

– Solution d'acide phosphorique :

acide phosphorique		3 mL
chlorure de sodium		20 g
Brij 35 [polyoxyéthylène (23) lauryl éther]		2,5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution de chlorure de sodium à 40 g/L :

chlorure de sodium	40 g

Brij 35 (polyoxyéthylène lauryl éther)		1 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon à 10 g/L de SO_4^{--} :

sulfate de sodium anhydre		14,796 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon une série de dilutions comprises entre 0 et 10 g/L. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

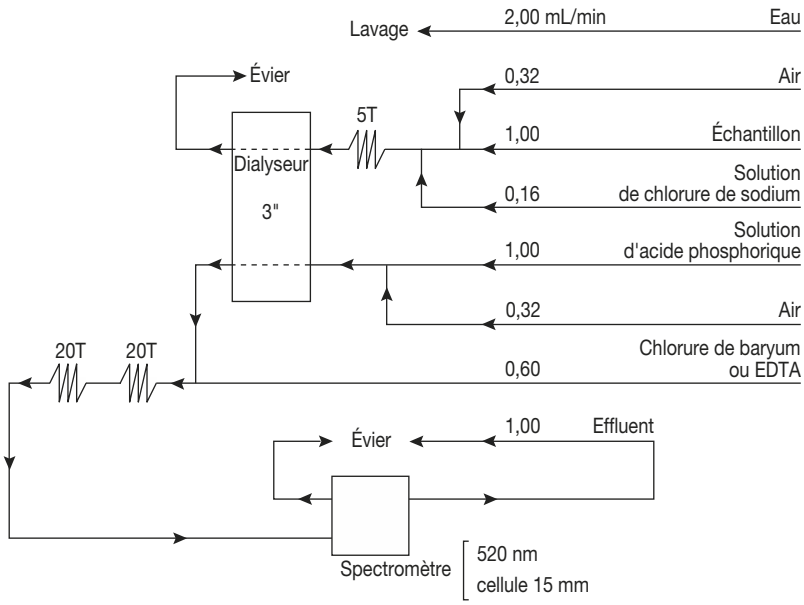


Schéma d'utilisation n° 2, gamme 0 à 10 g/L

Se reporter au schéma d'utilisation n° 2. La solution d'EDTA est utilisée entre chaque échantillon pour solubiliser le précipité. La cadence des déterminations est de 20 échantillons par heure à raison d'un rinçage de 90 secondes pour une prise d'échantillon de 90 secondes. Faire fonctionner l'appareil avec les réactifs et de l'eau déionisée jusqu'à établissement d'une ligne de base stable. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 520 nm.

Se reporter au § A-7.1.2.

■ Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en sulfates exprimée en grammes par litre.

7.49.4 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

NFT 90-009 (septembre 1986) Essais des eaux – Dosage des ions sulfates – Méthode gravimétrique.

NFT 90-040 (septembre 1986) Essais des eaux – Dosage des ions sulfates – Méthode néphélométrique.

NF EN ISO 10304-1 (juillet 1995) Qualité de l'eau – Dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, phosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : méthodes applicables pour les eaux faiblement contaminées (indice de classement T90-042).

7.50 Sulfite

7.50.1 Méthode potentiométrique

Se reporter au § A-11.3.

Se reporter au § A-7.1.7.

7.50.2 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthodes de référence

NF EN ISO 10304-3 (octobre 1997) Qualité de l'eau – Dosage des anions dissous par chromatographie en phase liquide – Partie 3 : Dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate (indice de classement T90-47).

7.51 Sulfure

7.51.1 Méthode potentiométrique

Se reporter au § A-11.3.

Se reporter au § A-7.1.7.

7.52 Thallium

Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

- **Principe, matériel spécial, réactifs**

  Se reporter au § A-7.1.6.

☐ **Réactifs**

– Solution mère étalon de thallium à 100 mg/L :

nitrate de thallium ($ThNO_3$)		130,3 mg
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le nitrate de thallium dans de l'eau. Après dissolution, ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré et ajuster le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 5 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 190,86 nm.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 40 µg/L.

Méthode de référence

NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : dosage de 62 éléments (Indice de classement T90-164).

7.53 Thiocyanate

7.53.1 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthode de référence

NF EN ISO 10304-3 (octobre 1997) Qualité de l'eau – Dosage des anions dissous par chromatographie en phase liquide – Partie 3 : Dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate (indice de classement T90-47).

7.54 Thiosulfate

7.54.1 Méthode potentiométrique

Se reporter au § A-11.3.

Se reporter au § A-7.1.7.

7.54.2 Méthode par chromatographie ionique

Se reporter au § A-7.1.3.

Méthode de référence

NF EN ISO 10304-3 (octobre 1997) Qualité de l'eau – Dosage des anions dissous par chromatographie en phase liquide – Partie 3 : Dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate (indice de classement T90-47).

7.55 Thorium

7.55.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au thorin

■ Principe

En milieu acide, le thorin, sel de sodium de l'acide (hydroxy-2 disulfo-3,6 naphtylazo-1) 2-benzène arsonique, donne avec les sels de thorium une coloration rouge susceptible d'un dosage spectrométrique dont la sensibilité n'est réellement satisfaisante qu'à partir de 10 µg. Les faibles quantités de thorium habituellement rencontrées nécessitent l'emploi de grands volumes d'eau concentrés par évaporation. Le thorium est alors séparé par précipitation sous forme d'hydroxyde, extrait par solvant puis dosé spectrométriquement.

Se reporter au § A-7.1.1.

□ Réactifs

– Acide chlorhydrique pur.
– Acide chlorhydrique *N*.
– Acide chlorhydrique 0,1 *N*.
– Acide perchlorique pur.
– Acide nitrique 5 *N*.
– Acide nitrique 4 *N*.
– Acide nitrique 0,1 *N*.
– Chlorure d'ammonium.
– Solution de chlorure d'ammonium à 10 %.
– Nitrate ferrique [$Fe(NO_3)_3$, 9 H_2O].
– Solution alcoolique de bleu de bromothymol à 0,1 %.
– Hydrazine.
– Solution TTA-chloroforme :

thénoyl-trifluoro-acétone		220 g
chloroforme	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 10 %.
– Solution aqueuse de thorin à 0,3 %.
– Solution mère étalon de thorium à 100 mg/L :

nitrate de thorium [$Th(NO_3)_4$, 4 H_2O]		238 mg
eau déionisée ou ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de thorium à 1 mg/L.

Amener 1 mL de la solution mère à 100 mL avec de l'eau déionisée ou ultra-pure.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire dans une série de béchers de 1 L les réactifs suivants :

Numéro des béchers	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution étalon de thorium à 1 mg/L (mL)	0	5	10	20	40	60	80
Eau déionisée (mL)	500	495	490	480	460	440	420
Nitrate ferrique (mg)	50	50	50	50	50	50	50
Chlorure d'ammonium (g)	10	10	10	10	10	10	10
Correspondance en µg de thorium	0	5	10	20	40	60	80

Dissoudre en agitant 15 minutes, puis ajouter quelques gouttes de solution alcaline de bleu de bromothymol. Porter le contenu de chaque bécher à l'ébullition. Faire dégager de l'ammoniac à la surface de la solution pour obtenir une coloration bleu-vert soit *p*H 6,5. Ajouter 1 goutte d'hydrazine puis laisser reposer la solution. Au bout de 2 heures au moins, filtrer sur un papier filtre sans cendres (filtration lente) et laver le précipité avec une solution de chlorure d'ammonium à 10 %. Dissoudre le précipité dans l'acide nitrique 4 *N* puis évaporer la solution à siccité en chauffant doucement pour éviter les projections. Reprendre le résidu par un volume d'acide nitrique 0,1 *N* (30 à 40 mL suivant le cas) le *p*H est alors compris entre 1 et 1,5.

Introduire chaque solution dans une ampoule à décanter, ajouter un volume de solution TTA-chloroforme égal au volume d'acide nitrique 0,1 *N* utilisé pour ajuster le *p*H. Agiter. Laisser les phases se séparer. Soutirer la phase solvant. Laver la phase aqueuse par 20 mL de solvant. Réunir les phases solvant puis les laver à deux reprises par 50 mL d'acide nitrique 0,1 *N*. Le thorium est alors extrait de la phase solvant par de l'acide nitrique 5 *N*. Évaporer la solution nitrique à siccité et minéraliser le résidu en ajoutant 2 mL d'acide perchlorique ; évaporer à sec. Le résidu est repris par 1 mL de HCl *N*. Ajouter 2 mL de chlorhydrate d'hydroxylamine à 10 %. Porter à début d'ébullition puis ajouter 0,6 mL d'acide chlorhydrique et 1 mL de solution aqueuse de thorin à 0,3 %. Ajuster le volume à 10 mL. Effectuer la lecture au spectromètre à 545 nm, après 30 minutes, en cuve de 2 cm d'épaisseur. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Évaporer 5 à 10 litres d'eau en milieu chlorhydrique 0,1 *N* jusqu'à obtention d'un volume voisin de 0,5 litre. Effectuer l'extraction et le dosage spectrométrique de la même façon que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La courbe donne la masse de thorium contenu dans la prise d'essai.

Les résultats sont exprimés en microgrammes de thorium par litre d'eau.

Remarques

– L'évaporation peut être remplacée par un passage de l'eau sur résine H^+ et élution par l'acide nitrique, suivie d'une évaporation.

– Dans le cas où l'on dispose d'appareillage spécial, le dosage du thorium peut s'effectuer par spectrométrie de masse équipé d'un générateur inductif de plasma, avec une sensibilité de 0,05 µg/mL.

7.55.2 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire à l'arsénazo (III)

Se reporter aux suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

7.55.3 Dosage de thorium 232

Se reporter au § A-8.4.

7.56 Titane

7.56.1 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.5.1.

□ Réactifs

– Solution acide :

solution d'acide chlorhydrique *N*	500 mL
solution d'acide fluorhydrique *N*	500 mL

– Solution mère étalon de titane à 100 mg/L :

chlorure de titane $TiCl_4$	396 mg
solution acide	*q.s.p.* 1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au dosage § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 365,3 nm.

Remarque

La limite de détection est de 300 µg/L.

7.56.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

□ Réactifs

– Acide nitrique (d = 1,38).

– Solution étalon à 1 g/L :

sulfate de titane $(Ti_2SO_4)_3$		4,008 g
acide chlorhydrique dilué au demi	*q.s.p.*	dissoudre
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de titane à 10 mg/L.

– Solution fille étalon de titane à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure (acidifiée à pH $<$ 2 par l'acidenitrique) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 10 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 20 µL d'échantillon acidifié par l'acide nitrique (pH $<$ 2). Sécher à 125 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à une température comprise entre 600 °C (sans modificateur) et 1 000 °C (avec modificateur) pendant 30 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 1 350 °C (sans modificateur) et 1 650 °C (avec modificateur) pendant 15 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 365,3 nm.

Se reporter au § A-7.1.5.

Remarque

La limite de détection est de 5 µg/L.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (Indice de classement T90-136).

7.57 Tritium (limite de qualité « Eau potable »)

Se reporter au § A-8.

7.58 Uranium

7.58.1 Méthode par spectrofluorimétrie

■ Principe

Après évaporation de l'eau, les traces de matières organiques sont minéralisées par calcination à 600 °C en présence de persulfate de potassium.

La fluorescence retardée de l'uranium émise à 494 nm sous l'excitation de la lumière ultraviolette à 230 nm est mesurée par spectrofluorimétrie.

□ **Matériel spécial**

– Plaque chauffante.
– Four à moufle 1 000 °C.
– Spectrofluorimètre.

□ **Réactifs**

– Solution étalon d'uranium à 100 mg/L :

oxyde d'uranium (UO_2) (certifié à 88,122 ± 0,090 %)		113,4 g
acide nitrique dilué au demi		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon à 1 mg/L.
– Diluer au 1/100 la solution étalon d'uranium ci-dessus avec de l'eau déionisée.
– Solution de persulfate de potassium à 50 g/L dans de l'eau déionisée.
– Acide phosphorique.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 50 mL, préparer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon à 1 mg/L (mL)	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1,0
Eau déionisée (mL)	25	25	25	25	25	25
Acide phosphorique (mL)	5	5	5	5	5	5
Eau désionisée (mL) *q.s.p.*	50	50	50	50	50	50
Correspondance en µg/L d'uranium	0	1	2	5	10	20

Mesurer la fluorescence de l'uranium à 494 nm avec une excitation de 230 nm. Tracer la courbe d'étalonnage des intensités de fluorescence en fonction des concentrations.

Mode opératoire

Prélever 5 à 100 mL d'eau à analyser selon la teneur présumée en uranium. Ajouter 1 mL de solution de persulfate de potassium, évaporer à sec, minéraliser à 600 °C pendant au moins une heure, laisser refroidir. Reprendre le résidu minéralisé par environ 20 mL d'eau déionisée. Ajouter 5 mL d'acide phosphorique.

Transférer dans une fiole jaugée. Compléter à 50 mL avec de l'eau déionisée. Bien homogénéiser. Effectuer la mesure de l'intensité de fluorescence dans les conditions décrites pour l'étalonnage. Reporter la valeur lue sur la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Soit : V mL le volume de la prise d'essai, X µg/L la concentration lue sur la courbe d'étalonnage, la teneur en uranium de l'eau à analyser (C) s'exprime par la relation

$$C\ (\mu g/L) = \frac{50X}{V}$$

Remarques

– Cette méthode s'applique pour des teneurs en uranium comprises entre 1 et 100 µg/L.

– Les interférences sont dues essentiellement aux matières organiques présentes dans l'eau ; la minéralisation permet de les éliminer.

7.58.2 Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP/MS)

Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

Réactif

– Préparer une solution étalon mère à 1 000 mg/L.

– Se reporter au § A-7.1.6.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon mère quatre dilutions dans l'eau ultrapure couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6

Effectuer les lectures sur l'isotope 238.

Remarque

La limite de détection est d'environ 0,05 µg/L en ICP/MS.

7.58.3 Autres méthodes

Se reporter au § A-8.4.1.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.59 Vanadium

7.59.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Le vanadium à l'état de pervanadyle VO_2^+ agit comme catalyseur de l'oxydation de l'acide gallique par le persulfate en milieu acide ; dans des conditions bien définies, l'oxydation est proportionnelle à la concentration en vanadium.

Se reporter au § A-7.1.1.

□ **Réactifs**

– Solution de nitrate mercurique à 0,35 g/L.
– Solution d'acide phosphorique dilué au demi (en volume).
– Solution acide de persulfate d'ammonium :

persulfate d'ammonium		50 g
solution d'acide phosphorique	*q.s.p.*	1 000 mL

Utiliser ce réactif dans une limite de temps comprise entre 24 et 48 h après sa préparation pour obtenir le maximum de son efficacité.

– Solution d'acide gallique à 20 g/L.

Utiliser de l'eau chaude pour la préparation de cette solution, la filtrer si nécessaire après refroidissement. La renouveler tous les jours.

– Solution mère étalon de vanadium à 100 mg/L :

métavanadate d'ammonium (NH_4VO_3)		229 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de vanadium à 1 mg/L.
– Solution fille étalon de vanadium à 0,010 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 10 µg/L).

■ Mode opératoire

Introduire 10 mL d'eau à analyser dans un tube, ajouter successivement en agitant après l'addition de chaque réactif :

– 1 mL de solution de nitrate mercurique ;
– 1 mL de solution acide de persulfate d'ammonium ;
– 1 mL de soluton d'acide gallique.

Noter l'heure et attendre 1 heure exactement à la température de 25 °C. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 415 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe donne la teneur en vanadium exprimée en microgrammes par litre.

Remarques

– Les halogénures interfèrent, l'addition de nitrate mercurique permet de neutraliser cette interférence. Pour des concentrations en bromures et iodures supérieures à 0,25 mg/L ou en chlorures supérieures à 100 mg/L, augmenter la concentration en nitrate mercurique.

– En présence de concentrations en fer (Fe^{3+}) supérieures à 0,5 mg/L ou en cuivre supérieures à 0,05 mg/L, diluer l'échantillon.

7.59.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

Réactifs

– Solution mère étalon de vanadium à 100 mg/L :

Se reporter à la méthode de dosage du vanadium par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (§ A-7.59.4).

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 318,4 nm.

Remarque

La limite de détection est de 200 µg/L.

7.59.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (atomisation électrothermique)

Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

Réactifs

– Solution mère étalon de vanadium à 1 g/L :

pentoxyde de vanadium anhydre	1,785 g

acide nitrique		60 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon fille à 1 mg/L.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure (acidifiée à *p*H < 2 par de l'acide nitrique) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

■ Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide nitrique. Sécher à 100 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à 1 400 °C (sans modificateur) pendant 10 secondes, puis atomiser à 2 650 °C (sans modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 318,4 nm.

Se reporter au § A-7.1.5.

Remarques

– La limite de détection est de 5 µg/L.

– Le magnésium peut être utilisé comme modificateur de matrice.

7.59.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

■ Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

□ Réactifs

– Solution mère étalon de vanadium à 100 mg/L :

métavanadate d'ammonium (NH_4VO_3)		229,7 mg
acide nitrique concentré	*q.s.p.*	dissoudre
acide nitrique concentré		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le métavanadate d'ammonium dans une quantité minimale d'acide nitrique concentré, chauffer si nécessaire. Après dissolution, ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré et ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 290,8 ou 292,4 nm en ICP ou sur l'isotope 51 en ICP/MS.

Remarque

La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et 0,01 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

7.60 Zinc

Les méthodes par spectrométrie d'absorption atomique et par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma permettent des mesures rapides dans de bonnes conditions de sensibilité.

7.60.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Le zinc forme un complexe coloré bleu avec le 2-carboxy-2 ′-hydroxy-5′-sulfoformazyl benzène (zincon) à un *p*H de 9,0. La coloration suit la loi de Beer jusqu'à 5 mg/L.

Se reporter au § A-7.1.1.

☐ Matériel spécial

– Se reporter au § A-7.1.1.

☐ Réactifs

– Solution tampon *p*H 9 :

hydroxyde de sodium en pastilles		8,4 g
acide borique (H_3BO_3)		31 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre l'hydroxyde de sodium dans 500 mL d'eau environ, ajouter l'acide borique, agiter pour dissoudre. Ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée. Mélanger.

– Ascorbate de sodium.

Ce réactif est nécessaire seulement quand l'échantillon est supposé contenir plus de 0,2 mg/L de manganèse.

– Solution de cyanure de potassium à 1 %.
– Cyclohexane.
– Acide chlorhydrique 6 *N*.
– Hydroxyde de sodium 6 *N*.
– Solution mère étalon de zinc à 1 g/L.

Dissoudre 1 g de zinc métal dans 10 mL environ d'acide nitrique au demi. Ajouter un peu d'eau et faire bouillir pour chasser les oxydes d'azote. Ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée.

– Solution fille étalon de zinc à 10 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire dans une série de fioles coniques de 125 mL :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution fille étalon de zinc à 10 mg/L (mL)	0	0,5	1	3	5	7	14
Eau déionisée (mL)	0	19,5	19	17	15	13	6
Correspondance en mg/L de zinc	0	0,25	0,5	1,5	2,5	3,5	7

Ajouter successivement les réactifs suivants en agitant après chaque addition :

0,5 g d'ascorbate de sodium.
5 mL de solution tampon.
2 mL de solution de cyanure de potassium.
3 mL de solution de zincon.

Mélanger soigneusement puis introduire 1 mL de cyclohexane. Agiter 10 secondes, soutirer le cyclohexane et effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 620 nm. Tenir compte de la valeur du témoin. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Prélever 20 mL d'échantillon et le traiter comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 20 mL, la courbe donne directement la teneur en milligrammes par litre.

Remarques

– Pour doser le zinc soluble, filtrer l'échantillon sur membrane 0,45 µm.
– Pour le zinc total, ajouter 1 mL d'acide chlorhydrique à 50 mL d'échantillon. Agiter, filtrer.

7.60.2 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Solution mère étalon de zinc à 100 mg/L.

Se reporter à la méthode de dosage du zinc par spectrométrie d'émission à l'aide d'un générateur inductif de plasma (A-7.60.4).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 2 mg/L).

■ Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.5.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 213,86 nm.

Remarques

– La limite de détection est de 2 µg/L.

– La complexation du zinc avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidino-dithiocarboxylique et l'extraction du complexe par la méthylisobutylcétone permet d'augmenter la sensibilité de la méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme et d'atteindre des concentrations de 0,5 µg/L. Cette méthode est applicable aux eaux peu chargées en matières organiques. Pour la description de la méthodologie, se reporter au dosage du fer (A-7.26).

7.60.3 Méthode par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (atomisation électrothermique)

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Matériel spécial

Se reporter au § A-7.1.5.

☐ Réactifs

– Solution d'acide chlorhydrique diluée au ½ :

Acide chlorhydrique pur	1 volume
Eau ultra-pure	1 volume

– Solution mère étalon de zinc à 0,1 g/L :

zinc métal		0,1 g
solution d'acide chlorhydrique		20 mL
eau ultra-pure	q.s.p.	1 L

– Solution fille à 1 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions dans l'eau ultra-pure (acidifiée à pH < 2 par l'acide chlorhydrique) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 50 µg/L).

Mode opératoire

Exemple de protocole à adapter en fonction de l'appareillage et des conditions expérimentales (matrice, nature et concentrations des modificateurs chimiques)

Injecter dans le four graphite 10 µL d'échantillon acidifié à pH < 2 par de l'acide chlorhydrique. Sécher à 100 °C pendant 30 secondes, minéraliser (pyrolyse) à une température comprise entre 600 °C (sans modificateur) et 1 000 °C (avec modificateur) pendant 15 secondes, puis atomiser à une température comprise entre 1 300 °C (sans modificateur) et 2 000 °C (avec modificateur) pendant 5 secondes. Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 213,9 nm.

Se reporter au § A-7.1.5.

> **Remarque**
> La limite de détection est de 0,05 à 1 µg/L.

7.60.4 Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP)

Principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter au § A-7.1.6.

Réactifs

– Solution mère étalon de zinc à 100 mg/L :

zinc métal		100 mg
acide chlorhydrique dilué au demi		20 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dissoudre le zinc dans l'acide chlorhydrique dilué au demi, puis compléter le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution étalon quatre dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme des concentrations souhaitées (max. : 1 mg/L).

Mode opératoire

Se reporter au § A-7.1.6.

Effectuer les lectures à la longueur d'onde de 206,19 nm en ICP ou sur les isotopes 64,66 ou 68 en ICP/MS.

> **Remarque**
> La limite de détection est d'environ 1 µg/L en ICP et de 0,2 µg/L en ICP/MS.

Méthodes de référence

AFNOR FD T 90-112 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 8 éléments métalliques par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme (indice de classement T90-112).

AFNOR NF EN ISO 15586 (mai 2004). Qualité de l'eau – Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (indice de classement T90-119).

AFNOR NF EN ISO 11885 (mars 1998). Qualité de l'eau – Dosage de 33 éléments par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (indice de classement T90-136).

AFNOR NF EN ISO 17294-1 (janvier 2007). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 1 : lignes directrices générales (indice de classement T90-163).

AFNOR NF EN ISO 17294-2 (avril 2005). Qualité de l'eau – Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) – Partie 2 : Dosage de 62 éléments. (indice de classement T90-164).

8 • RADIOACTIVITÉ

8.1 Généralités

La radioactivité est le terme utilisé pour décrire les transitions atomiques spontanées qui mettent en jeu les changements d'état des noyaux des atomes. L'énergie dégagée dans ces transformations est émise sous la forme de radiations électromagnétiques ou corpusculaires.

8.1.1 Radioactivité naturelle

La radioactivité naturelle a été longtemps recherchée pour ses vertus dites curatives, lors de cures thermales par exemple. C'est en 1896 que Becquerel a découvert la radioactivité naturelle en exposant une plaque photographique à des sels d'uranium, en 1898 que Pierre & Marie Curie extraient de plusieurs tonnes de minerai d'uranium, le polonium et le radium [1].

Les trois familles radioactives naturelles (uranium, thorium et actinium) donnent naissance à des radioéléments émetteurs α, β ou γ. Les radioéléments gazeux sont le thoron (^{220}Rn) découvert par Ernest Rutherford et Frédérick Soddy et issu du thorium X (^{224}Ra), le radon (^{222}Rn) découvert par Dorn et l'actinon (^{219}Rn) découvert par Giesel. Le thoron est présent en quantité nettement plus faible dans l'atmosphère en raison de sa plus courte période (55,6 s). Le risque associé au radon résulte de l'inhalation de ses descendants solides à vie courte, émetteurs alpha. Le radon et ses descendants contribuent le plus à l'exposition de l'individu [1].

Les sols et les eaux sont radioactifs du fait de leur teneur naturelle en potassium 40 et en éléments radioactifs des chaînes de l'uranium 238 et du thorium 232.

8.1.2 Radioactivité artificielle

La radioactivité artificielle a été découverte en 1933 par Frédéric et Irène Joliot-Curie. Dès lors, de nombreux radioéléments ont été découverts, produits artificiellement par des réactions nucléaires avec des accélérateurs de particules ou dans des réacteurs nucléaires. Dans ces derniers, en plus de nombreux produits de fission radioactifs, de nombreux autres éléments radioactifs sont produits par des réactions (n,γ), (n, 2n), (n, p), (n,α)… La radioactivité artificielle regroupe pratiquement tous les éléments de la table de Mendeleev.

Outre la radioactivité naturelle, les sources de radioactivité artificielle des sols et des eaux sont dues à l'influence potentielle de l'industrie liée au nucléaire (extraction de l'uranium, retraitement du combustible nucléaire, déchets radioactifs [2]), des industries minières extractives, des industries

et de l'utilisation de matériaux minéraux riches en radioéléments d'origine naturelle (engrais riches en phosphates, terres rares).

8.1.3 Exposition annuelle de la population

En France, la radioactivité naturelle constitue 61 % de l'exposition annuelle totale de la population aux rayonnements ionisants, dont 6 % dus à l'eau et aux aliments ingérés. La majeure partie de la radioactivité naturelle est due au radon, aux rayonnements tellurique et cosmique. Quant à la radioactivité artificielle, les expositions médicales représentent 38 % de l'exposition et les sources industrielles seulement 1 %. Des travaux sont menés par l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN) pour actualiser ces estimations, étudier la variabilité de l'exposition naturelle en fonction de la localisation géographique et fournir des indicateurs d'exposition les plus réalistes possible [1, 3].

8.2 L'eau

8.2.1 Qualité radiologique de l'eau

L'eau de source et les eaux minérales se chargent en radioactivité naturelle au cours de la traversée des roches encaissantes par dissolution des radionucléides. Les radioéléments gazeux contribuent à la radioactivité naturelle des eaux : le thoron (^{220}Rn), le radon (^{222}Rn) et l'actinon (^{219}Rn). Les autres radioéléments, le potassium 40, le rubidium 87, le samarium 147, le lutécium 176 et le rhénium 187, y contribuent à un moindre degré. Dans l'eau, l'activité bêta est essentiellement due au ^{40}K. Les eaux de surface sont moins radioactives que les eaux minérales gazeuses [1]. Si l'eau représente une faible partie de l'exposition à la radioactivité naturelle, elle constitue cependant la première inquiétude pour le consommateur en cas de rejets radioactifs artificiels. La radioactivité artificielle des eaux naturelles a plusieurs sources : l'industrie électronucléaire (rejets d'installations nucléaires et les accidents), les essais d'armes nucléaires.

La prévention d'une contamination interne chronique par des radionucléides présents dans l'eau potable nécessite la mise en place d'une surveillance de la qualité radiologique des eaux destinées à la consommation [4]. L'efficacité de filières de traitement d'eau potable est l'objet d'études, en particulier pour l'élimination des radionucléides césium et strontium. Une filière utilisant une filtration sur zéolite permet un rendement de 99 % pour ces deux radionucléides [5].

La qualité radiologique des eaux minérales a fait l'objet de développements techniques pour mesurer de faibles radioactivités avec une bonne précision, en particulier dans des laboratoires souterrains où le flux de neutrons cosmiques et le flux de muons sont considérablement réduits. Il est par exemple possible de mesurer une teneur en uranium inférieure à 0,09 ppb dans l'une des eaux les plus pures du point de vue radiologique [6].

Les eaux de source et les eaux minérales contiennent les éléments des familles naturelles de l'uranium et du thorium. En 1998, les valeurs maximales mesurées étaient 900 mBq L^{-1} pour ^{238}U dans les eaux de Badoit

St Galmier, 28 mBq L^{-1} pour ^{238}Th et 250 mBq L^{-1} pour ^{226}Ra dans celles de St-Yorre Royale [1]. En faisant l'hypothèse d'un adulte ne buvant à cette époque que de l'eau gazeuse minérale, il aurait été soumis annuellement à une dose efficace engagée comprise entre 0,02 mSv et 1,24 mSv [1, 7].

La Commission Internationale de Protection Radiologique (CIPR) recommande pour le public à différents âges des coefficients de dose efficace engagée Par Unité d'Incorporation, (DPUI en Sv Bq^{-1}). Pour un même becquerel ingéré de certains radionucléides, ces coefficients sont 10 à 50 fois plus élevés pour les enfants que pour les adultes et plus particulièrement pour les nourrissons [7]. Il est considéré que pour le nourrisson, la consommation d'eau gazeuse n'est pas vraisemblable [7].

8.2.2 Conservation et manipulation des échantillons d'eau

La norme européenne EN ISO 5667-3 : 2004-06 élaborée par le Comité Technique ISO/TC 147 « Qualité de l'eau » en collaboration avec le Comité Technique CEN/TC 230 « Analyse de l'eau » donne les lignes directrices sur les précautions à prendre pour conserver et transporter toutes sortes d'échantillons d'eau, eaux superficielles, eaux résiduaires et eaux souterraines, susceptibles de se modifier par suite de réactions physiques, chimiques ou biologiques [8]. Ces précautions concernent le choix, la préparation et le remplissage des récipients, la manipulation, la conservation et le stockage des échantillons, les réactifs.

8.3 Détermination de la radioactivité d'un échantillon

La détermination de la radioactivité d'un échantillon fait appel à la mesure de rayonnements électromagnétiques (photons gamma ou X), d'émissions d'électrons ou bêta ou de particules alpha. Les appareils de mesure doivent avoir une bonne sensibilité et un faible bruit de fond. Différents types de détecteur sont utilisés, ceux dont le signal résulte des ionisations provoquées par les rayonnements γ ou le dépôt d'énergie des particules chargées (Compteurs Geiger-Muller, chambres d'ionisation, compteurs proportionnels, détecteurs à diodes ou semi-conducteurs (semicteurs)), ceux qui utilisent les excitations (scintillateurs). En mesurant le nombre d'ionisations ou d'excitations, on accède à l'énergie de la particule. Le détecteur utilisé en « impulsion » est relié à un préamplificateur dont le faible signal de sortie est de l'ordre d'une dizaine de mV par MeV. Le signal est ensuite amplifié en gardant une excellente linéarité dans la plage 0 à 10 V [9].

La détermination de l'activité volumique de radionucléides dans l'eau a fait l'objet de nombreuses normes françaises NF (Association Française de Normalisation, AFNOR), européennes EN ISO (Comité Européen de Normalisation, CEN) et internationales (Organisation Internationale de Normalisation, ISO) citées en référence.

Les termes, définitions et symboles pour la détermination des activités sont donnés par exemple dans la norme française NF ISO 10703 : 2008-03 [10] :

constante de désintégration, activité, efficacité de comptage, résolution en énergie, durée de comptage, limite de détection.

La constante de désintégration d'un radionucléide dans un état énergétique donné est le quotient de dP par dt, où dP est la probabilité que le noyau subisse une transition nucléaire spontanée dans l'intervalle de temps dt.

L'activité est le nombre moyen de désintégrations par seconde d'un radionucléide, exprimé en becquerels (Bq).

La résolution en énergie est le rapport de la largeur du pic (FWHM : Full Width at Half Maximum) par l'énergie moyenne du pic [9].

La durée de comptage est le temps pendant lequel l'instrument de mesure est en comptage.

8.3.1 Spectrométrie gamma

La spectrométrie gamma a l'avantage de pouvoir mesurer simultanément plusieurs isotopes différents à des taux de radioactivité très faibles. Dans un détecteur à semi-conducteur, les paires électron-trou sont détectées sous forme d'impulsions électriques en appliquant une tension aux bornes du détecteur semi-conducteur et après amplification. L'amplitude des impulsions proportionnelle à l'énergie absorbée est portée en abscisse. Le nombre d'impulsions par canal est porté en ordonnée. Le choix de la largeur du canal ou de la fenêtre en énergie dE est important parce que la définition du spectre augmente quand dE diminue. Cependant, cette définition a une limite parce que la résolution du détecteur se traduit par un élargissement des pics dû aux fluctuations du nombre d'ionisations ou d'excitations, du bruit électronique et de la dérive du gain du circuit électronique [9]. Le spectre de distribution des amplitudes des impulsions est le spectre de rayonnements γ ; les différents pics sont attribués aux radionucléides correspondants [10]. Il faut compter un temps suffisamment long pour atteindre la limite de détection désirée. L'activité des radionucléides est calculée à l'aide de l'efficacité de comptage du détecteur associée à l'énergie.

La norme française NF ISO 10703 : 2008-03 présente une méthode de détermination simultanée des activités volumiques de différents radionucléides émetteurs γ entre 40 keV et 2 MeV dans des échantillons d'eau par spectrométrie γ à haute résolution avec des détecteurs de germanium de haute pureté (GeHP). Le détecteur est maintenu à une température proche de celle de l'azote liquide pour diminuer le courant de fuite et le niveau de bruit. Le détecteur est également pourvu d'un blindage (fer ou plomb) pour diminuer le bruit de fond, en particulier pour les mesures de faibles activités. Le signal de sortie du détecteur est transmis à un analyseur multicanal associé à un ordinateur [10]. Pour effectuer des mesures de faibles activités avec une grande précision, un détecteur semi-conducteur en germanium de 400 cm^3 (Eurysis Measures) refroidi par de l'azote liquide et protégé par un blindage de 15 cm de plomb et de 15 cm de cuivre OFHC, a été utilisé au laboratoire souterrain de la Vue-des-Alpes [6].

On doit déterminer précisément la dépendance en énergie de l'efficacité de comptage de l'appareil de mesure [10]. Une fraction seulement des particules émises par la source arrive dans le détecteur et interagit dans

son volume, tout particulièrement dans le cas des photons γ parce que le coefficient d'absorption est une fonction de l'énergie [9].

Dans la bande d'énergie de 100 keV à 2000 keV, 4096 ou 8192 canaux permettent d'obtenir une bonne résolution en énergie [10].

8.3.2 Spectrométrie alpha

Comme la plupart des radionucléides émetteurs α sont aussi émetteurs γ, ils peuvent être caractérisés en spectrométrie γ. Les particules α ayant un très faible parcours dans les solides, les sources α sont très difficiles à préparer [9]. Les sources pour spectrométrie α peuvent être préparées par électrodéposition ou par co-précipitation en couche mince [11]. Deux types de détecteurs sont utilisés [11] :

– La chambre à grille est une chambre d'ionisation à impulsion qui permet le mesurage de l'ionisation d'un milieu gazeux induite par la perte d'énergie des particules alpha dans l'espace grille-cathode. Le gaz est un mélange argon-méthane. Les électrons et les ions positifs sont collectés. Le nombre d'électrons est proportionnel à l'énergie déposée.

– Le détecteur semi-conducteur, un cristal en silicium placé entre deux électrodes, et la source radioactive sont introduits dans une chambre à vide. La particule alpha crée dans le semi-conducteur des paires électron-trou qui sont séparées par un champ électrique intense. Les porteurs de charge sont dirigés vers les électrodes. L'amplitude de l'impulsion résultante est proportionnelle à l'énergie de la particule.

Dans les deux cas, le spectre représente les impulsions en ordonnée et l'énergie en abscisse.

La scintillation liquide α avec réjection β, γ PERALS (*Photon Electron Rejecting Alpha Liquid Scintillation*) utilise la discrimination électronique par la forme de l'impulsion pour éliminer les événements β et γ [12]. Le principe de la scintillation liquide est basé sur l'interaction de rayonnements ionisants avec un mélange liquide fluorescent. Les particules émises par les composés radioactifs transfèrent leur énergie au mélange scintillant constitué de la prise d'essai et du liquide scintillateur qui doit donc être miscible à l'eau. Les solutions à scintillations du commerce contiennent des solvants organiques comme le xylène, le toluène ou le pseudocumène (1,2,4-triméthylbenzène) et des agents tensio-actifs [13]. Le pseudo-cumène a une faible toxicité, un point éclair élevé et sa diffusion au travers des fioles en polyéthylène est acceptable. Après relaxation via de nombreux processus de relaxation électronique, les molécules du solvant portées dans leur état électronique singulet excité transfèrent leur énergie à des molécules organiques capables d'émettre des photons de fluorescence dans le proche UV et le bleu, domaine spectral où les photomultiplicateurs sont plus sensibles. Des interférences peuvent être dues à des processus de luminescence comme la chimiluminescence, la phosphorescence et la triboluminescence. Il faut donc éviter l'exposition des flacons à la lumière. Une atténuation de l'intensité des émissions lumineuses peut résulter de l'action de « quencheurs » de fluorescence. Les exemples de quencheurs sont les acides, les composés organiques comme l'acétone, les organochlorés, le nitrométhane…

Les mesures sont effectuées à une température régulée, inférieure à 20 °C, pour abaisser le bruit de fond des photomultiplicateurs. Les impulsions électriques qu'ils délivrent, sont de faible amplitude. Elles sont donc amplifiées, discriminées du bruit propre et analysées [9].

8.3.3 Mesure de la radioactivité bêta

L'activité bêta peut être mesurée avec un compteur proportionnel à circulation gazeuse ou par scintillation liquide, dont l'avantage est de permettre la visualisation des spectres et d'être discriminant vis-à-vis de l'énergie des particules.

– Le compteur proportionnel utilisé depuis la fin des années 40, a des avantages par rapport aux scintillateurs plastiques : faible rendement de détection des rayonnements gamma, meilleur rendement de détection des rayonnements bêta, plus faible bruit de fond, possibilité de mesures simultanées α, β. Il a un meilleur temps de réponse que le compteur Geiger-Müller et il permet la discrimination entre les α et β. Il est basé sur l'ionisation d'un gaz et le phénomène de multiplication par avalanche de Townsend par lequel un électron peut acquérir une énergie cinétique suffisante pour l'ionisation du gaz lors de la collision suivante. Le gaz de remplissage est un gaz rare (Ar, Kr ou Xe) auquel sont ajoutés quelques pourcents d'un gaz polyatomique (10 % CH_4) au très fort coefficient d'absorption pour les photons dans le visible ou l'UV émis par les molécules excitées par les électrons. Ainsi, ces photons ne produisent pas d'ionisations indésirables. Le gaz est recyclé dans la direction des particules chargées. La résolution du compteur proportionnel varie en général avec l'inverse de la racine carrée de l'énergie des particules [9].

– Les compteurs à scintillation liquide sont équipés de flacons de 20 mL (cf. paragraphe 8.3.2).

8.3.4 Sources de référence pour l'étalonnage des appareils

■ Rayonnements gamma

Pour l'étalonnage en énergie, on doit utiliser une ou plusieurs sources certifiées de référence émettrices de rayonnements γ avec des énergies connues sur toute la gamme d'énergie à mesurer. Il est recommandé d'utiliser des sources avec des radionucléides à vie longue (europium-152, américium-241, cobalt-60, césium-137) [10]. Un détecteur au germanium a été calibré avec une source de monazite (un phosphate riche en uranium et en thorium) possédant un grand nombre de raies gamma [6].

Pour l'étalonnage en efficacité, on doit utiliser une ou plusieurs sources de référence dont l'incertitude sur les activités est connue.

Les sources certifiées de référence doivent être raccordées à un étalon national ou international [10].

■ Solutions certifiées pour les radionucléides émetteurs alpha

Des solutions certifiées Pu242 ou Pu236, Am243, Cm242 ou Cm244, Am243/Np239 ou Np235 sont utilisées.

8.3.5 Limite de détection et seuil de décision

La norme internationale ISO 11929-1 : 2000-07 définit des valeurs statistiques permettant une évaluation des capacités de détection des mesurages des rayonnements ionisants. Ces valeurs statistiques, qui caractérisent des probabilités d'erreur et dépendent des variations résultant des statistiques de comptage, sont le seuil de décision et la limite de détection définis dans la norme [14] :

Le seuil de décision permet de prendre une décision pour chaque mesurage avec une probabilité d'erreur donnée de décider si les impulsions enregistrées comprennent ou non une contribution de l'échantillon.

La limite de détection spécifie la contribution minimale de l'échantillon pouvant être détectée avec une probabilité d'erreur donnée.

8.3.6 Modèle statistique

Le nombre N_0 d'impulsions sans échantillon est donné par le rayonnement de bruit de fond. Le nombre N_S d'impulsions avec l'échantillon est la somme de N_0 et du nombre N_n d'impulsions dues aux désintégrations de l'échantillon :

$$N_S = N_0 + N_n$$

N_S mesuré pendant une durée t_s et N_0 mesuré pendant une durée t_0 suivent une loi de Poisson. Les taux de comptage respectifs sont R_S et R_0 :

$$R_S = \frac{N_S}{t_S} \qquad R_0 = \frac{N_0}{t_0}$$

Les espérances mathématiques des taux de comptage R_S et R_0 sont ρ_S et ρ_0 :

$$\rho_S = \rho_0 + \rho_n$$

Le taux de comptage net R_n est :

$$R_S = R_0 - R_n$$

et son espérance mathématique est ρ_n.

Les formules de calcul du seuil de décision et de la limite de détection sont données dans le tableau 1 de la référence 14.

Les probabilités d'erreur α, β et le niveau de confiance 1-γ doivent être spécifiés, ils sont souvent : $\alpha = \beta = \gamma = 0{,}05$ [14].

8.3.7 Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en activité massique ou volumique avec leur incertitude associée. Le résultat est une estimation de la valeur vraie et l'incertitude est une combinaison d'incertitudes élémentaires.

8.4 Actinides

La présence des actinides dans l'environnement est la conséquence de l'exploitation des mines d'uranium, de la production d'armes nucléaires, des tests nucléaires, des accidents de réacteurs nucléaires… On prévoit de stocker les déchets nucléaires de haute activité dans des formations géologiques profondes. Il est donc nécessaire de comprendre le comportement géochimique des radionucléides et leur migration à travers les barrières géologiques vers la biosphère. Ce sont les actinides de longue durée de vie neptunium, plutonium, américium et curium qui déterminent la radiotoxicité sur une longue période et que l'on doit considérer pour la sécurité à long terme.

La détection et la mesure de faibles activités d'actinides comme le thorium, l'uranium, le plutonium, l'américium et le curium dans des échantillons variés, sont donc très importantes. Plusieurs techniques sont utilisées : la fluorescence induite par laser et résolue en temps (TRLIF) pour les actinides fluorescents, la spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma (ICPMS), la spectrométrie α et la scintillation liquide α avec réjection β,γ (spectrométrie PERALS, Photon Electron-Rejecting Alpha-Liquid Scintillation). L'ICPMS est avantageuse dans le cas des nucléides à longue durée de vie (^{232}Th, ^{234}U, ^{238}U, ^{237}Np). Pour les nucléides à courte durée de vie (plutonium, américium et curium), il semble préférable d'utiliser la spectrométrie liquide alpha PERALS [13].

8.4.1 Uranium

La détermination de l'uranium dans l'eau potable a fait l'objet de méthodes standards. La méthode (908.0) de l'*Environmental Protection Agency* (EPA) utilise la coprécipitation par l'hydroxyde de fer $Fe(OH)_3$ pour concentrer l'uranium et les autres radionucléides présents dans un litre d'eau. Cette méthode nécessite des séparations par échange anionique qui prennent du temps pour isoler l'uranium et elle ne fournit qu'une mesure de l'activité α totale par comptage proportionnel [15, 16]. Dans la méthode (D 3972) préconisée par l'*American Society for Testing and Materials* (ASTM), l'uranium séparé est électro-déposé et compté par spectrométrie α à l'état solide, qui permet une excellente résolution en énergie, l'utilisation d'un moniteur interne et l'analyse précise de la plupart des isotopes de l'uranium [15, 17]. Cependant l'électro-déposition est très lente et les efficacités de comptage sont comprises entre 10 et 30 %. Cet inconvénient a conduit à la mise en œuvre de nouvelles techniques comme la scintillation liquide α avec réjection β,γ à l'aide d'une électronique avec discrimination de la forme de l'impulsion (PERALS®) qui assure une efficacité de comptage proche de 100 %, des temps de comptage plus courts et une grande reproductibilité [13, 15, 18].

Une amélioration de l'extraction de l'uranium a été l'utilisation d'un liquide scintillant contenant l'acide bis (2-éthylhexyl) phosphorique (HDEHP) comme agent extractant de l'uranium de la solution aqueuse à pH 3 contenant de l'acide diéthylènetriamine-pentaacétique (DTPa) pour empêcher l'extraction des radionucléides autres que l'uranium (^{241}Am, ^{238}Pu, ^{210}Po, ^{226}Ra, ^{230}Th). UO_2^{2+} est en effet faiblement complexé par le DTPa [15]. Une procédure plus rapide, robuste et simple a été proposée par J. Aupiais qui

minimise les étapes chimiques : la concentration du DTPa est 0,1 M, le pH est ajusté à 3,5 avec NH_3 10 M, le cocktail extractant-scintillateur est Alphaex™ et la normalisation est réalisée par ajout d'^{232}U [18].

Chaque isotope (^{238}U, ^{234}U et ^{232}U) apparaît sur le spectre d'énergie sous la forme de trois pics, le pic majeur (principale transition α) et deux pics satellites de conversion interne. L'activité d'un isotope j (j = 238 ou 234) s'exprime par :

$$A_j = \frac{\sum_{i=1}^{3} N_i^j}{\sum_{i=1}^{3} N_i^*} \times m^* \times A^* \times \frac{1000}{(M, V)} \quad \text{(en Bq kg}^{-1}\text{ ou Bq L}^{-1}\text{)}$$

où N_i^j et N_i^* sont les nombres de coups de tous les pics attribués à l'isotope j et au marqueur respectivement, m^*(g) et A^*(Bq g^{-1}) représentent la quantité et l'activité spécifique de l'isotope ^{232}U, *(M, V)* est le poids (g) de l'échantillon ou son volume (mL).

Il n'est pas possible de mesurer ^{235}U à cause du manque de résolution ; on ne peut que mesurer l'activité totale ^{235}U + ^{238}U. La concentration en uranium est alors :

$$C(U) = A(^{238}U + {}^{235}U) \times 7{,}723 \times 10^{-5} \quad \text{(en g L}^{-1}\text{ ou g kg}^{-1}\text{)}$$

Pour un échantillon de 100 mL et un temps de comptage de 240 000 s, la limite de détection est de 0,2 μg kg^{-1} soit 0,003 Bq kg^{-1} [18]. Il est à noter que selon les nouvelles directives européennes, la concentration en uranium dans l'eau potable ne doit pas dépasser 1 μg L^{-1} [18].

La norme française NF M 60-805-1 (Février 2003), qui décrit les conditions de mesurage de la concentration en uranium dans l'eau par fluorimétrie, une des techniques les plus anciennes utilisées pour le dosage de l'uranium, est applicable pour les concentrations supérieures ou égales à 0,5 μg L^{-1} [19]. L'excitation lumineuse est à 360 nm et la lecture de l'intensité de la fluorescence à 520 nm.

8.4.2 Plutonium

Plutonium et neptunium peuvent exister sous différents états d'oxydation selon les conditions géochimiques. Pour le plutonium, quatre états d'oxydation peuvent coexister : Pu(III), Pu(IV), Pu(V) et Pu(VI).

La spectroscopie d'absorption classique a une faible sensibilité à cause des faibles coefficients d'absorption des états d'oxydation III-V ; elle est donc limitée à des concentrations relativement élevées en plutonium ($\geq 10^{-5}$ M). C'est pourquoi aux faibles concentrations, on utilise des méthodes de spéciation chimique qui combinent des procédés de séparation chimique (extraction par solvant, échange d'ion ou co-précipitation) et des techniques de détection très sensibles comme la spectrométrie de masse. Cependant, les états d'oxydation sont perturbés par ces méthodes.

L'électrophorèse capillaire (EC) couplée à l'ICPMS permet de séparer les états d'oxydation du plutonium et du neptunium ; ce couplage est aussi

très intéressant quant aux temps de séparation courts et à l'efficacité de séparation de l'EC d'une part et à la sensibilité de l'ICPMS d'autre part [20]. La limite de détection du plutonium sous un seul état d'oxydation est de 50 ppb soit $2X10^{-7}$ M.

La scintillation liquide α avec réjection β–γ (PERALS) permet la mesure de plus faibles concentrations en plutonium qu'en uranium : Pour ^{238}Pu Energie α 5,498 MeV) et ^{239}Pu (Energie α 5,155 MeV), les limites de détection atteignent respectivement $5x10^{-18}$ M et $1x10^{-15}$ M [12].

La norme française NF M 60-801 (Septembre 2004) décrit une méthode de mesurage de l'indice de radioactivité alpha global en équivalent plutonium 239 dans l'eau peu chargée en sels (teneur inférieure à 2 g. L^{-1}), applicable aux radionucléides émettant des particules alpha [21]. La mesure peut être influencée par la présence de radionucléides émetteurs bêta, gamma, s'ils ne sont pas discriminés. Le radon et ses descendants émetteurs alpha peuvent perturber la mesure. L'échantillon est préparé par évaporation pour obtenir un dépôt mince. Une source de référence ^{239}Pu est utilisée pour l'étalonnage. Le système de mesure de radioactivité alpha comporte, soit un compteur à scintillation ZnS qui a un meilleur rendement et n'est pas influencé par les émetteurs β et γ, soit un compteur proportionnel.

8.4.3 Transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha

Les normes françaises NF M 60-804-1, NF M 60-804-2 et NF M 60-804-3 (Avril 2004) décrivent les conditions de concentration des échantillons, de séparation des radionucléides, de préparation de sources minces et de mesurage de l'activité des émetteurs alpha (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha dans des eaux continentales ou marines, ayant une activité volumique comprise entre 0,1 mBq. L^{-1} et 10 Bq. L^{-1}. Il est possible de diluer les échantillons dont les activités sont plus élevées. L'ajout indispensable de traceurs radioactifs permet de déterminer un rendement global pour chaque essai [11, 22, 23].

À des quantités connues de la prise d'essai et des traceurs, on ajoute de l'acide nitrique ou chlorhydrique si besoin est. L'ajustage des valences est réalisé et la concentration est effectuée par évaporation sur plaque chauffante ou par co-précipitation avec un sel, nitrate ou chlorure de fer Fe (III), qui donne l'hydroxyde ferrique $Fe(OH)_3$ à pH 8.

Le résidu de l'évaporation ou le précipité sont repris à l'acide nitrique ou chlorhydrique. Le plutonium est ajusté à la valence IV par ajout d'un réducteur, chlorhydrate d'hydroxylamine (NH_2OH, HCl) ou hydrogénosulfite de sodium ($NaHSO_3$) ou thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) ou par ajout d'eau oxygénée 30 %.

On sépare sélectivement le plutonium et l'ensemble américium-curium [11, 22]. La solution échantillon et la solution de rinçage appropriée sont passées sur une colonne chromatographique remplie de résine anionique (AG1X4®, AG1X8®) [22]. Une résine de type CMPO/TBP est utilisée pour l'américium et le curium [22].

Le neptunium 237 est séparé de l'uranium et du plutonium [11, 23]. Pour mesurer l'activité en neptunium 237, l'essai est effectué sur l'échantillon

d'eau peu chargé en matières en suspension, le plus tôt possible après le prélèvement. Le traceur est le neptunium 239 en équilibre avec l'américium 243 [23]. Le neptunium est ajusté à la valence IV. Américium et neptunium sont séparés sur résine de type DP (PP) [23].

La préparation de la source en vue de la spectrométrie alpha est effectuée par électrodéposition ou par co-précipitation en couche-mince [22].

Les radionucléides émetteurs alpha d'énergie comprise entre 3 MeV et 8 MeV sont détectés par l'interaction de la particule avec le gaz de la chambre à grille ou le détecteur semi-conducteur (cf. paragraphe 5.3.2). La durée de mesure est fonction de la limite de détection recherchée.

8.4.4 Radium

Depuis la découverte du radium en 1898, sa présence dans les eaux minérales a fait l'objet de nombreux papiers [24]. De nos jours, le radium est considéré comme le nucléide le plus radiotoxique. En France, la limite annuelle d'incorporation par ingestion est de $7x10^3$ Bq. an^{-1} [24]. De nombreuses techniques sont très sensibles ; aux très faibles concentrations, la coprécipitation avec du sulfate de barium et l'adsorption sur bioxyde de manganèse sont les méthodes les plus utilisées pour concentrer le radium.

La spectrométrie à scintillation liquide α (PERALS) permet de combiner une préparation rapide de l'échantillon et une bonne sensibilité. Dans le cas du radium, le cocktail extractant – scintillant appelé RADAEX décrit par McDowell contient deux molécules, l'acide 2-méthyl-2-heptylnonanoïque (HMHN) et le composé couronne dicyclohexano-21-crown-7 ($Cy_2$21C7) comme extractants. La limite de détection est de 6 mBq. L^{-1} pour ^{226}Ra, ce qui permet le contrôle efficace des eaux minérales [24].

La norme française NF M 60-803 (Juillet 2001) décrit les conditions de mesurage de l'activité du radium 226 dans tous types d'eau par des techniques différentes : émanométrie, spectrométrie gamma, scintillation liquide [25]. L'émanométrie est la mesure des descendants émetteurs alpha à courte période (^{222}Rn, ^{218}Po et ^{214}Po) à l'état d'équilibre radioactif. Elle est applicable aux eaux d'activités en ^{226}Ra soluble supérieures à 0,02 Bq. L^{-1} sur une prise d'essai de 500 mL ou 1000 mL. En spectrométrie gamma, la détermination du radium 226 soluble dans l'eau est faite par la mesure de ses descendants, ^{214}Pb et ^{214}Bi. Elle est applicable aux eaux d'activités en ^{226}Ra soluble supérieures à 0,01 Bq. L^{-1} sur une prise d'essai de plusieurs dizaines de litres.

8.4.5 Radon

Un spectromètre à scintillation liquide α PERALS a été également utilisé pour la mesure de la concentration en radon dans l'eau. La résolution en énergie est de 557 keV FWHM pour la raie α à 5,49 MeV du 222Rn [26]. L'optimisation de la méthode d'extraction du radon est le problème principal. La limite de détection estimée à 0,23 Bq L^{-1} (1σ) et 0,68 Bq L^{-1} (3σ) permet les mesures dans des eaux de source. Les résultats sont comparables à ceux obtenus en spectrométrie γ qui assume l'équilibre radioactif entre le radon et ses descendants ^{214}Pb et ^{214}Bi [26].

8.5 Strontium 90 et Yttrium 90

Le strontium 90, dont la période radioactive est de 28,75 ans, peut être déterminé dans l'eau après séparation chimique par comptage bêta du strontium 90 lui-même ou de son descendant l'yttrium 90 dont la période radioactive est plus courte (64,2 heures soit 2,67 jours). Tous deux sont émetteurs bêta purs. En attendant un temps suffisamment long de 27 jours (10 périodes de ^{90}Y) après leur séparation chimique, ils sont à nouveau à l'équilibre séculaire et le rapport de leurs activités A_{90Y} et A_{90Sr} est proche de 1.

8.5.1 Indice de radioactivité β global en équivalent strontium 90

La norme française NF M 60-800 (Septembre 2004) décrit une méthode de mesurage de l'indice de radioactivité β global en équivalent strontium 90 et yttrium 90 dans l'eau peu chargée en sels. Elle est applicable à l'analyse des eaux potables et des eaux brutes et aux radionucléides non volatils émettant des particules bêta d'énergie supérieure à 100 keV. Pour les émetteurs β d'énergie inférieure à 100 keV, la mesure est effectuée par scintillation liquide [27].

L'indice de radioactivité β global d'un mélange de radioactinides peut être déterminé par rapport à une source de référence ^{90}Sr + ^{90}Y à l'équilibre. Le ^{90}Sr est choisi à cause de sa radiotoxicité. Cet indice est différent de la somme des radioactivités effectives des radionucléides présents parce que le même rendement de mesure leur est affecté par convention [27].

La méthode est basée sur la préparation d'un dépôt mince par évaporation sur coupelle en tôle d'acier inoxydable emboutie. Le diamètre de la coupelle est inférieur ou égal au diamètre sensible du compteur. La température d'évaporation doit être uniforme et de l'ordre de 65 °C. Un fixateur permet de protéger le dépôt en évitant la perte partielle mais la fixation est à proscrire si une mesure des émetteurs alpha est effectuée. La pesée des prises d'essai permet d'appliquer le facteur de correction d'auto-absorption qui est l'inverse du facteur d'atténuation exprimé par le rapport du nombre d'événements mesurés au nombre d'événements détectables [27].

Le système de mesure est basé sur un compteur proportionnel à circulation de gaz (argon-méthane ou argon-CO_2) à fenêtre de mylar métallisé et un compteur de garde en anticoïncidence pour tenir compte du mouvement propre du détecteur (la source est remplacée par un « blanc » de réactifs) et de la contribution des photons.

8.5.2 Activité du strontium 90

Les normes françaises NF M 60-806-1, NF M 60-806-2 et NF M 60-806-3 (Mai 2005) décrivent le mesurage de l'activité du strontium 90 et de l'yttrium 90 dans les eaux après séparation radiochimique du strontium par l'acide nitrique fumant [28] ou par extraction sur résine « éther-couronne » [30] ou encore après extraction par solvant organique de l'yttrium 90 [29].

La norme française NF M 60-806-1 s'applique aux échantillons d'eaux souterraines, aux effluents liquides et aux eaux de mer [28]. La limite de détection est de l'ordre de 100 mBq L^{-1} pour une prise d'essai de 1 litre

avec une durée de comptage de 12000 secondes [28]. La méthode est basée sur l'ajout de strontium inactif comme entraîneur et de strontium 85 comme traceur et la séparation du nitrate de strontium du nitrate de calcium en milieu acide nitrique concentré. Les isotopes du radium, du baryum et du plomb sont éliminés par précipitation avec le chromate de baryum, ceux d'autres radionucléides et de l'yttrium 90 par précipitation d'hydroxyde d'yttrium. Ces opérations sont suivies d'ajout d'yttrium inactif comme entraîneur et de l'attente de l'équilibre de ^{90}Y pour séparer l'yttrium du strontium par précipitation sous forme d'oxalate et mesurer ^{90}Y avec un compteur à circulation gazeuse.

La norme française NF M 60-806-2 est bien adaptée aux échantillons de plus de 10 litres, à la concentration en strontium naturel de l'ordre de 10 mg L^{-1} et une minéralité importante comme dans le cas de l'eau de mer. La limite de détection est de l'ordre de 0,1 mBq L^{-1} pour une prise d'essai de plus de 100 litres avec une durée de comptage de 6000 secondes [29]. La méthode suppose l'équilibre de ^{90}Y et ^{90}Sr. Après ajout d'yttrium comme entraîneur et extraction de l'yttrium par l'acide Bis (éthyl-2-hexyl)-hydrogénophosphorique (HDEHP), lavage de la phase organique par l'acide chlorhydrique 1 M et extraction de l'yttrium par l'acide chlorhydrique 9 M, la solution est purifiée par du chlorure de trioctylméthyl-ammonium pour éliminer les actinides et le fer. L'yttrium est alors précipité sous forme d'oxalate, calciné sous forme d'oxyde et analysé par comptage β^- avec un compteur à circulation gazeuse ou par scintillation liquide après dissolution avec de l'acide nitrique 0,1 M. Dans le cas où un compteur à circulation gazeuse est utilisé, on doit suivre l'évolution de l'activité de l'yttrium 90 en contrôlant sa période radioactive pour vérifier l'absence d'autres émetteurs β^-.

La méthode décrite dans la norme française NF M 60-806-3 permet d'obtenir dans tout type d'eau y compris les eaux de rejet, la séparation du strontium 90 mais le strontium 89 peut interférer ainsi que d'autres éléments tels que le calcium, le plomb, le radium et l'uranium. La limite de détection est de l'ordre de 10 mBq L^{-1} pour une prise d'essai de 1 litre pour une durée de comptage de 12000 secondes avec un compteur à circulation de gaz [30]. Par scintillation liquide, la limite de détection est de l'ordre de 50 mBq L^{-1} pour une durée de comptage de 3600 secondes. La prise d'essai est préconcentrée si nécessaire et les sels sont dissous dans 10 mL d'une solution nitrique. Le volume percolé sur la colonne de résine Sr® est d'environ 20 mL. Après élution du strontium, la solution est évaporée sur une coupelle en acier et la mesure de l'activité du strontium est effectuée au compteur proportionnel ou par scintillation liquide [30]. La pureté de la solution de ^{90}Sr éluée est contrôlée en suivant la croissance de l'activité de ^{90}Y jusqu'à l'équilibre.

8.6 Tritium

À la suite des essais d'armes nucléaires dans l'atmosphère et d'émissions par les centrales électronucléaires, la quantité de tritium peut augmenter dans l'environnement et malgré sa faible radiotoxicité, son activité volumique dans l'environnement est contrôlée pour suivre sa circulation dans

l'hydrosphère et la biosphère. Il décroît avec une période de 4540 jours (12,43 ans) en émettant des rayonnements β dont l'énergie maximale est de 18,6 keV [31, 32].

On entend par tritium de l'échantillon le tritium présent dans les molécules d'eau et dans toutes les espèces de l'échantillon. On entend par tritium de l'eau le tritium présent dans les molécules d'eau [32].

La norme internationale ISO 9698:1989:12 applicable à tous les types d'eaux d'activité volumique allant jusqu'à 10^6 Bq/m^3 décrit une méthode pour déterminer l'activité volumique de l'eau tritiée dans l'eau par scintillation liquide [31]. Le principe est après addition de thiosulfate de sodium à l'échantillon et ajustement à un pH alcalin avec du carbonate de sodium, la distillation pour laisser dans le résidu les composés gênants pour la mesure en scintillation liquide d'une part et les autres éléments radioactifs d'autre part. Le thiosulfate de sodium transforme l'iode éventuellement présent en iodure. Le mode de distillation préconisé n'introduit pas de fractionnement isotopique important. On utilise une eau de référence ayant une activité volumique aussi faible que possible, inférieure à 500 Bq/m^3 et une solution étalon interne préparée soit par dilution à partir d'une solution étalon dont l'activité connue avec une précision meilleure que 1 % est comprise entre 10^{10} et 10^{11} Bq/m^3, soit en utilisant des capsules de référence en tritium soluble aqueux. Les solutions à scintillation du commerce sont à base de pseudocumène (1,2,4-triméthylbenzène) et d'émulsifiants [13]. Les compteurs à scintillations en milieu liquide sont équipés de flacons de 20 mL en polyéthylène. Les flacons en polyéthylène donnent en général un taux de comptage du bruit de fond plus faible que les flacons en verre [31]. Il existe des flacons de verre pauvres en potassium ^{40}K [32].

La méthode plus récente, décrite dans la norme française NF M 60-802-1, est applicable à tous les types d'eaux d'activité volumique allant de 1 Bq L^{-1} à 10^6 Bq L^{-1} [32]. La prise d'essai sur l'échantillon brut, si l'eau est peu chargée en matières en suspension, est mélangée avec un liquide scintillant dans un flacon de comptage. Le taux de comptage des photons émis par le liquide scintillant permet de déterminer l'activité de la prise d'essai, en tenant compte du mouvement propre et du rendement de détection. Pour le mouvement propre, un essai à blanc est réalisé avec une eau de référence d'activité aussi basse que possible, une eau de nappe profonde par exemple. Pour le rendement de détection, on utilise une eau qui est une source radioactive certifiée d'eau tritiée ou une dilution de cette source. Les flacons de comptage sont en polyéthylène ou en polytétrafluoroéthylène (PTFE]. La diffusion des solvants organiques est plus lente à travers le PTFE [32]. La mesure est effectuée dans la fenêtre 0-18,6 keV de l'émission β du tritium. On fait également une mesure dans la fenêtre d'énergie supérieure pour vérifier l'absence d'autres radionucléides. Dans le cas particulier de la présence simultanée du tritium et du carbone 14, il faut mesurer une eau d'activités connues en tritium et en carbone 14, un mélange ou une dilution de ce mélange de sources radioactives certifiées [33]. Les mesures sont effectuées dans les fenêtres d'énergie de l'émission β du tritium et de l'émission β du carbone 14. On fait également une mesure dans la fenêtre d'énergie supérieure à celle du carbone 14 pour vérifier l'absence d'autres radionucléides.

8.7 Carbone 14

La norme française NF M 60-802-2 est applicable à tous les types d'eaux ayant une activité volumique en carbone 14 allant de 1 Bq L^{-1} à 10^6 Bq L^{-1} [34]. Le principe est le même que celui de la détermination du tritium [31, 32]. Les mesures sont effectuées dans la fenêtre d'énergie 18,6 – 156 keV de l'émission β du carbone 14 et dans la fenêtre d'énergie supérieure pour vérifier l'absence d'un autre radionucléide.

8.8 Césium 137

Les deux isotopes du césium ont des durées de vie différentes, $t_{1/2}$ = 30 ans pour ^{137}Cs et $t_{1/2}$ = 2 ans pour ^{134}Cs. Ce dernier a été libéré en grandes quantités lors de l'accident du réacteur nucléaire de Chernobyl en avril 1986 [35]. Avec cet accident, des activités en ^{134}Cs n'étaient détectables que dans la partie sud de la Mer du Nord. Le rapport caractéristique des activités $^{134}Cs/^{137}Cs$ était de 0,52 le 1er mai 1986 [35].

8.8.1 Méthode au phosphomolybdate d'ammonium

Dans la 8e édition du présent ouvrage, la méthode au phosphomolybdate d'ammonium avait été décrite. Après concentration de la radioactivité au moyen d'une résine cationique, le césium est séparé en milieu nitrique par échange entre les ions ammonium d'un précipité de phosphomolybdate d'ammonium et les ions césium en solution [36, 37]. Le précipité est séché et transféré sur une capsule de comptage. Cette technique permet de séparer et de mesurer une activité de l'ordre de 20 Bq/m^3. Elle s'applique directement à une prise d'essai de 1 L.

8.8.2 Méthode du iodobismuthate de césium

La méthode décrite par Schmitt et Kautsky a été utilisée pour mesurer les activités des deux isotopes du césium, ^{137}Cs et ^{134}Cs, dans la Mer du Nord [35]. Des volumes de 50 L sont utilisés pour l'analyse. Le césium est précipité sous la forme d'un hexanitro-cobaltate. Le précipité est décomposé avec de l'acide chlorhydrique bouillant et le résidu dissous dans l'eau. Le potassium ^{40}K est éliminé par précipitation de KCl dans l'éthanol. Cs^+ est précipité sous forme de $Cs_3Bi_2I_9$ et le précipité est utilisé pour le comptage β. L'erreur relative sur la mesure de l'activité est comprise entre 2 et 5 %. Le rapport des activités des deux isotopes est mesuré par spectrométrie γ.

Méthodes de référence

NF EN ISO 5667-3 : 2004-06. Qualité de l'eau. Échantillonnage. Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau.

NF EN ISO 10703 : 2008-03. Qualité de l'eau. Détermination de l'activité volumique des radionucléides. Méthode par spectrométrie gamma à haute résolution.

NF M 60-804-1 (Avril 2004). Énergie nucléaire. Mesurage de l'activité

des transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha dans l'eau. Partie 1 : Généralités.

ISO 11929-1 : 2000-07. Détermination de la limite de détection et du seuil de décision des mesurages des rayonnements ionisants – Partie 1 : Principes fondamentaux et application aux mesures par comptage, sans l'influence du traitement de l'échantillon.

NF M 60-805-1 (Février 2003). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eaux. Partie 1 : Mesure de la concentration de l'uranium dans l'eau par fluorimétrie.

NF M 60-801 (Septembre 2004). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Mesurage de l'indice de radioactivité alpha global en équivalent plutonium 239 dans l'eau peu chargée en sels.

NF M 60-804-2 (Avril 2004). Énergie nucléaire. Mesurage de l'activité des transuraniens (Pu, Am, Cm) par spectrométrie alpha dans l'eau. Partie 2 : Séparation des radionucléides à mesurer par l'utilisation de résines anioniques, cationiques et par chromatographie d'extraction.

NF M 60-804-3 (Avril 2004). Énergie nucléaire. Mesurage de l'activité des transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha dans l'eau. Partie 3 : Séparation des radionucléides à mesurer par l'utilisation de résines par chromatographie d'extraction (petits volumes).

NF M 60-801 (Septembre 2004). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Mesurage de l'activité du radium 226 dans l'eau.

NF M 60-800 (Septembre 2004). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Mesurage de l'indice de radioactivité bêta global en équivalent strontium 90 et yttrium 90 dans l'eau peu chargée en sels.

NF M 60-806-1 (Mai 2005). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 1 : Mesurage de l'activité du strontium 90 dans les eaux – Séparation radiochimique du strontium par l'acide nitrique et mesurage de l'activité bêta de l'yttrium 90.

NF M 60-806-2 (Mai 2005). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 2 : Mesurage de l'activité du strontium 90 dans les eaux – Extraction par solvant organique de l'yttrium 90 et mesurage de l'activité bêta.

NF M 60-806-3 (Mai 2005). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 3 : Mesurage de l'activité du strontium 90 dans les eaux – Séparation radiochimique du strontium par extraction sur résine de type « éther-couronne » et mesurage de l'activité bêta.

ISO 9698:1989-12. Qualité de l'eau – Détermination de l'activité volumique du tritium – Méthode par comptage des scintillations en milieu liquide.

NF M 60-802-1 (Juillet 2000). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 1 : Mesurage de l'activité des émetteurs Bêta par scintillation liquide – Cas particulier du tritium.

NF M 60-802-3 (Juillet 2003). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 3 : Mesurage de l'activité des émetteurs

Bêta par scintillation liquide – Cas particulier de la présence simultanée du tritium et du carbone 14.

NF M 60-802-2 (Juillet 2000). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 2 : Mesurage de l'activité des émetteurs Bêta par scintillation liquide – Cas particulier du carbone 14.

9 • PARAMÈTRES ORGANIQUES GLOBAUX

Préambule

Les eaux naturelles contiennent un nombre important de composés organiques, dont la nature et les caractéristiques ne sont pas encore totalement décrites. Présents en concentrations faibles et variables (de quelques ng/L à quelques mg/L au maximum), ces composés sont le plus souvent décrits par des caractéristiques chimiques ou physicochimiques particulières : composés solubles ou particulaires, structures hydrophobes ou hydrophiles, substances humiques ou non humiques, matières organiques naturelles ou anthropiques, biodégradables ou non biodégradables, structures aromatiques ou aliphatiques, composés de hautes ou de faibles masses molaires…

Les outils analytiques utilisés pour quantifier et caractériser ces diverses fractions de matières organiques mettent le plus souvent en œuvre des procédures complexes d'extraction, de fractionnement, de purification. La plus usitée de ces méthodes est décrite à la fin de ce paragraphe.

Il est rarement possible de doser véritablement ces diverses matières organiques, même si quelques méthodes chromatographiques permettent d'approcher certaines classes de composés par leurs groupes réactionnels (cf. analyse des acides aminés et des sucres à la fin de ce paragraphe). Mais elles peuvent être appréhendées par des approches globales faisant appel à diverses caractéristiques communes à ces composés ou à certains d'entre eux :

– leur caractère oxydable, qui est évalué grâce à des oxydants tels que le permanganate de potassium (indice permanganate) ou plus rarement le dichromate de potassium (DCO : demande chimique en oxygène),

– leur aptitude à la biodégradation, déterminé en utilisant divers consortiums bactériens par les tests de DBO_n (demande biologique en oxygène après une incubation de n jours) ou CODB (carbone organique dissous biodégradable),

– la présence d'éléments de base (carbone, azote, phosphore) dans les structures organiques, par l'analyse du carbone organique total ou dissous (COT ou COD), de l'azote organique ou global ou encore du phosphore organique ou total,

– la présence de composés organiques contenant du chlore, du brome ou de l'iode, par l'évaluation des composés organohalogénés adsorbables (AOX),

– leurs caractéristiques spectrales, et en particulier leur absorbance dans l'UV.

Les outils analytiques présentés dans ce chapitre découlent de ces différentes approches. Mais il convient cependant de préciser que l'interprétation des résultats analytiques doit être conduite avec rigueur et prendre en compte certaines particularités des tests mis en œuvre. Ainsi, lors des tests d'oxydabilité, tous les composés organiques présents ne sont pas toujours totalement oxydés et les substances oxydées ne sont pas seulement d'origine organique, certains composés minéraux, parfois présents dans les eaux naturelles (nitrites, ammoniaque, sulfures…), étant également oxydables.

9.1 Indice permanganate (référence de qualité « Eau potable »)

(Oxygène utilisé pour la réduction du permanganate de potassium)

Ce test à caractère conventionnel a pour but d'approcher la teneur en matières organiques présentes dans l'eau.

Il est utilisé pour le suivi de la qualité des eaux superficielles, mais aussi pour celui des eaux potables.

Quelques substances réductrices non organiques peuvent interférer (NO_2^-, Fe^{2+}…) et beaucoup de composés organiques ne sont que partiellement oxydés lors de ce test. Malgré cela, l'analyse des eaux naturelles fait souvent apparaître une relation entre l'indice permanganate et la teneur en carbone organique dissous (COD) des eaux, qui varie entre 1 et 2 mg d'oxygène par mg de carbone.

■ Définition

L'indice permanganate d'une eau est la concentration en masse d'oxygène en relation avec la quantité d'ions permanganate consommée par un échantillon d'eau, dans des conditions définies. Exprimé en mg/L d'oxygène, il correspond à une mesure conventionnelle pour évaluer la contamination d'un échantillon d'eau faiblement chargé en matière organique.

■ Principe

Le test consiste à mesurer en milieu acide la quantité d'oxygène utilisée pour la réduction du permanganate de potassium par les matières oxydables contenues dans une eau.

□ Réactifs

– Eau déionisée ou de qualité équivalente dont la consommation en permanganate est négligeable.

– Acide sulfurique concentré à 18 mol/L (d = 1,84).

– Solution mère de permanganate de potassium 0,1 N (20 mmol/L).

Utiliser de préférence une solution titrée prête à l'emploi. Le cas échéant, préparer cette solution selon le protocole suivant :

Introduire dans une fiole jaugée de 1 L, 3,2 g de permanganate de potassium, ajouter 800 mL d'eau, mélanger et après dissolution, compléter le volume à 1 L. Porter ensuite la solution à 90-95 °C pendant 2 h. Refroidir, laisser reposer deux jours au moins avant utilisation. Décanter la solution claire dans un flacon en verre inactinique.

– Solution fille de permanganate de potassium à 2 mmol/L.

Diluer 100 mL de la solution mère à 1 000 mL avec de l'eau déionisée. Conserver cette solution à l'obscurité ; la renouveler fréquemment.

– Solution d'acide sulfurique à 2 mol/L :

acide sulfurique (d = 1,84)		110 mL
solution de permanganate de potassium à 0,01 *N*	*q.s.p.*	coloration rose
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dans un bécher contenant 500 mL d'eau déionisée, verser avec précaution et sous agitation constante 110 mL d'acide sulfurique concentré. Après refroidissement, ajouter de la solution de permanganate de potassium en quantité suffisante pour obtenir une coloration rose persistante. Transvaser dans une fiole jaugée de 1 L, ajuster le volume.

– Solution mère d'oxalate de sodium à 0,1 N (0,05 mol/L) :

Utiliser de préférence une solution titrée prête à l'emploi. Le cas échéant, préparer cette solution selon le protocole suivant :

oxalate de sodium déshydraté		6,7 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1000 mL

Conservée à l'obscurité, cette solution est stable 6 mois environ.

– Solution fille d'oxalate de sodium à 0,01 *N* (5 mmol/L).

Diluer 100 mL de la solution mère à 1 000 mL avec de l'eau déionisée. Cette solution est stable deux semaines.

☐ Matériel spécial

Système de chauffage (bloc chauffant, plaques chauffantes, bain de sable…) permettant de maintenir les échantillons à une température de 98 °C (± 2 °C).

Flacons d'essai en verre ou en verre borosilicaté (fioles coniques de 200 à 250 mL ou tubes à essai de 150 à 200 mm de hauteur et 25 à 30 mm de diamètre), adaptés au système chauffant utilisé.

Microburette de 5 mL ou à défaut burette de précision de 10 mL graduée au 1/20.

■ Mode opératoire

Le protocole se décompose en 4 étapes :

– acidifier l'échantillon et le porter à 98 °C,

– ajouter le permanganate de potassium (solution titrée) et maintenir l'ébullition pendant 10 minutes (± 15 secondes) : au cours de cette phase, le permanganate de potassium sera consommé par les matières oxydables contenues dans l'échantillon,

– après 10 minutes (± 15 secondes) d'ébullition, ajouter de l'oxalate de sodium (solution titrée) en excès, pour réduire le permanganate de potassium qui n'a pas été consommé,

– doser l'oxalate de sodium en excès pendant que la solution est encore chaude par une solution titrée de permanganate de potassium.

Il s'agit donc d'un dosage en retour du permanganate de potassium non consommé par les matières oxydables, selon le schéma réactionnel suivant :

Réduction du permanganate par les matières oxydables :

$$MnO_4^- + 8\ H^+ + 5\ e^- \leftrightarrow Mn^{2+} + 4\ H_2O$$

Réduction du permanganate en excès par un excès d'oxalate, puis dosage de l'oxalate en excès par du permanganate, selon les réactions suivantes :

$$C_2O_4^{2-} \leftrightarrow 2\ CO_2 + 2\ e^-$$

$$MnO_4^- + 8\ H^+ + 5\ e^- \leftrightarrow Mn^{2+} + 4\ H_2O$$

L'équation globale du dosage étant :

$$2\ MnO_4^- + 5\ C_2O_4^{2-} + 16\ H^+ \leftrightarrow 2\ Mn^{2+} + 10\ CO_2 + 8\ H_2O$$

Introduire une prise d'essai de 25 mL dans le flacon d'essai. Ajouter 5 mL d'acide sulfurique à 2 mol/L, mélanger avec précaution. Placer le récipient dans le système de chauffage pendant 10 min puis ajouter 5 mL de solution de permanganate de potassium 0,01 *N*. Noter l'heure. Au bout de 10 min (± 15 secondes), ajouter 5 mL de solution d'oxalate de sodium 0,01 *N* et attendre la décoloration de la solution. Titrer la solution encore chaude avec la solution de permanganate de potassium 0,01 *N* jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistant environ 30 s. Noter le volume de solution de permanganate consommé, soit V_1.

Parallèlement à l'essai, procéder à un essai à blanc dans les mêmes conditions mais sur 25 mL d'eau déionisée ; soit V0 le volume de permanganate de potassium utilisé, V0 doit être inférieur à 0,3 mL.

■ Vérification du titre de la solution de permanganate de potassium

Ajouter 5 mL de solution d'oxalate de sodium 0,01 *N* à la fin de l'essai à blanc. Si nécessaire, réchauffer la solution à 80 °C. Titrer avec la solution de permanganate de potassium jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistant environ 30 s ; soit V_2, le volume utilisé.

Le titre t (ou normalité) de la solution de permanganate de potassium est alors :

$$t = \frac{5\ .\ 0{,}01}{V_2}$$

Le titre t doit être très voisin de 0,01 N. Dans le cas contraire, vérifier la propreté du matériel. Si cette propreté n'est pas en cause, procéder à une nouvelle préparation des solutions titrées (oxalate et permanganate).

■ Expression des résultats

L'indice permanganate (IP), exprimé en milligrammes d'oxygène par litre d'échantillon, peut alors se calculer comme suit :

$$IP\ (mg/L\ O_2) = (V_1 - V_0)\ .\ t\ .\ 8.\ \frac{1\,000}{V_{échantillon}}$$

Expression dans laquelle on peut remplacer t par sa valeur calculée précédemment, avec :

t : normalité de la solution de permanganate de potassium utilisée (voisin de 0,01 N).

V_1 : volume en mL de la solution de permanganate de potassium consommé pour l'échantillon.

V_0 : volume en mL de la solution de permanganate de potassium consommé pour l'essai à blanc.

V_2 : volume en mL de la solution de permanganate de potassium utilisé pour le titrage de la solution.

$V_{échantillon}$: volume en mL d'échantillon utilisé pour le dosage (ici 25 mL).

8 : équivalent en oxygène, exprimé en mg, d'un millilitre d'une solution normale de permanganate de potassium.

Dans les conditions opératoires présentées ci-dessus (t = 0,01 et $V_{échantillon}$ = 25 mL), l'expression devient :

$$IP\ (mg/L\ O_2) = 16\ \frac{V_1 - V_0}{V_2}$$

Remarques

– Lors du prélèvement, on ajoutera 5 mL d'acide sulfurique à 7,5 mol/L par litre d'échantillon et l'analyse sera effectuée dans les 48 heures qui suivent le prélèvement.

– Laver soigneusement la verrerie à chaud avec une solution acide de permanganate de potassium. Vérifier l'état de la verrerie en procédant à un essai à blanc. Réserver la verrerie à l'usage exclusif de l'indice permanganate.

– Une concentration en chlorures supérieure à 500 mg/L gêne le dosage.

Méthode de référence

NF EN ISO 8467 (juillet 1995). Détermination de l'indice permanganate (indice de classement T90-050).

9.2 Demande chimique en oxygène (DCO)

Se reporter au chapitre sur l'analyse des eaux résiduaires, critères de la pollution organique.

La méthode de mesure de la DCO décrite dans ce chapitre n'est pas applicable aux eaux ayant une DCO inférieure à 30 mg/L, comme c'est le cas des eaux naturelles.

9.3 Demande biochimique en oxygène (DBO)

■ Préambule

Compte tenu de sa limite de détection, la méthode de mesure classique de la demande biochimique en oxygène (DBO), réalisée par dilution et ensemencement, et telle que décrite dans le chapitre sur l'analyse des eaux résiduaires, n'est pas applicable aux eaux naturelles.

Dans le cadre des inventaires de la qualité des eaux superficielles, il a été pratiqué pendant de nombreuses années une évaluation de cette DBO, par

une méthode sans dilution, appelée autoconsommation en oxygène, test pratiqué sur une durée de 24 ou 48 heures. Quelque peu délaissée dans les années 1990, cette méthode retrouve en 1998 sa place dans l'offre de chimie analytique applicable aux eaux naturelles, avec la publication de la norme européenne EN 1899-2, qui a le statut de norme française et a été homologuée en mai 1998 (NF EN 1899-2), avec des périodes d'incubation de n jours (n = 5 à 7).

Cette méthode est adaptée pour la détermination de la DBO d'eaux faiblement chargées en matières organiques, telles que les eaux naturelles, pour lesquelles la DBO est inférieure à 6 mg/L.

■ Définition

La demande biochimique en oxygène est la concentration, en masse d'oxygène dissous, consommée pour l'oxydation par voie biochimique des matières organiques contenues dans l'échantillon, dans les conditions de l'essai.

■ Principe

La teneur en oxygène de l'eau est déterminée immédiatement après le prélèvement, puis à nouveau après un temps d'incubation de n jours à 20 °C. La différence entre les deux mesures correspond à la consommation d'oxygène, considérée dans ces conditions comme la demande biochimique en oxygène.

Aucun apport de nutriments ou ensemencement par des micro-organismes n'est apporté à l'échantillon lors de cet essai.

□ Matériel

– Flacons d'incubation en verre (dits flacons DBO), d'une capacité de 100 à 130 mL ou de préférence de 250 à 300 mL, munis de bouchons en verre, permettant une fermeture totalement hermétique.

– Armoire d'incubation, pouvant assurer une température de 20 °C.

– Si possible un appareillage de détermination électrochimique de l'oxygène dissous avec sonde (oxymètre) (cf. § A-4.3.2). Le cas échéant, mettre en œuvre la méthode chimique de détermination de l'oxygène dissous (méthode de Winkler modifiée).

■ Mode opératoire

La solubilité de l'oxygène dissous variant avec la température, la totalité de la détermination est réalisée à 20 °C. Toutes précautions utiles devront également être prises lors des opérations de remplissage pour éviter une modification de la teneur en oxygène du milieu.

Porter la température de l'échantillon à 20 °C.

Remplir un flacon d'incubation avec cet échantillon, jusqu'à débordement, en prenant soin d'éliminer toutes les bulles d'air.

Déterminer la concentration en oxygène dissous (C_0) en mg/L.

Boucher les flacons sans emprisonner de bulles d'air.

Mettre à incuber à 20 °C à l'obscurité pendant *n* jours.

Déterminer après incubation de n jours la concentration en oxygène dissous (C_n) en mg/L.

Expression des résultats

La demande biochimique en oxygène après n jours, exprimée en mg d'oxygène par litre correspond à :

$$DBO_n = C_0 - C_n$$

n = nombre de jours d'incubation (5 ou 7).

C_0 = concentration en oxygène dissous dans l'échantillon au temps 0.

C_n = concentration en oxygène dissous dans l'échantillon après incubation de n jours.

Remarques

– La méthode est utilisable pour des eaux dont la teneur en oxygène, après incubation, est encore d'au moins 2 mg/L. Dans le cas contraire, enrichir l'eau en oxygène par agitation en présence d'air.

– Certaines substances sont oxydées par l'oxygène sous l'action de micro-organismes. Elles peuvent être inactivées en agitant l'échantillon pendant 1 heure en présence d'air.

– Si l'échantillon contient des substances bactériostatiques ou toxiques, celles-ci doivent être neutralisées.

– En présence de chlore libre, l'éliminer par addition de thiosulfate de sodium en quantité stoechiométrique.

– Les eaux fortement acides ou fortement alcalines doivent être ajustées à un *p*H de 7 à 8.

– L'élimination des substances interférentes peut entraîner, par modification des caractéristiques de l'eau, des résultats erronés.

– L'analyse devra être réalisée le plus tôt possible et impérativement dans les 24 heures qui suivent le prélèvement, l'échantillon étant conservé à 4 °C dans un flacon fermé hermétiquement et rempli sans bulles d'air.

– Effectuer au moins une double détermination sur chaque échantillon.

– Le choix du temps d'incubation (5 ou 7 jours) permet de s'affranchir d'un travail le week-end et il est possible d'établir des facteurs de conversion entre les données de DBO_5 et DBO_7 pour un même type d'eau.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN 1899-2 (mai 1998). Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO_n), partie 2 : Méthode pour les échantillons non dilués (indice de classement T90-103-2).

9.4 Carbone organique total (COT) (référence de qualité « Eau potable »)

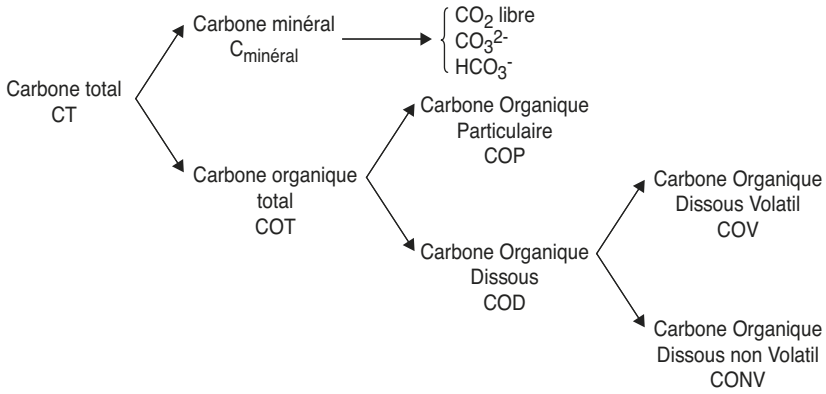
Préambule

Dans les eaux naturelles, le carbone peut être présent sous différentes formes (voir schéma ci-dessous), le carbone organique ne représentant

le plus souvent qu'une faible concentration par rapport aux teneurs en carbone inorganique.

Carbone Total = Carbone Organique Total (COT) + Carbone Minéral

Le carbone organique total (COT) est constitué d'une grande diversité de matières organiques dont certaines peuvent être présentes sous forme particulaire (COP). Une filtration des échantillons (sur une membrane filtrante de 0,45 μm) permet d'éliminer cette fraction non dissoute et d'analyser spécifiquement le carbone organique dissous (COD).



Pour l'analyse du carbone organique, une étape préliminaire comportant une acidification suivie d'un dégazage permet d'éliminer toutes les formes minérales, mais l'étape de dégazage peut éventuellement éliminer également le carbone organique volatil (encore appelé carbone organique purgeable), s'il est présent. Dans les eaux naturelles et les eaux potables, cette teneur en composés organiques volatils est généralement négligeable et l'analyse permet donc d'accéder à la totalité du COD.

Compte tenu de la technique d'oxydation utilisée dans les analyseurs de carbone organique (combustion, oxydation chimique, oxydation catalytique, irradiation UV, ou couplage de ces méthodes), qui permet une oxydation quasi-totale des diverses structures organiques, la majeure fraction de la matière organique des eaux naturelles est prise en compte dans ce paramètre.

■ Principe de la détermination

Les composés carbonés contenus dans les eaux subissent une oxydation qui les transforme en dioxyde de carbone (CO_2), qui est ensuite dosé à l'aide d'un analyseur infrarouge.

Le carbone d'origine inorganique étant éliminé préalablement par dégazage en milieu acide, la détermination conduit directement à la teneur en carbone organique de l'échantillon.

Le carbone minéral peut également être déterminé avec le même appareillage. Il suffit de faire une deuxième détermination sans éliminer ce car-

bone minéral. On accède alors au carbone total et on obtient le carbone minéral par différence :

Carbone Minéral = Carbone total – COT

Matériel

– Appareillage pour la détermination du carbone organique comportant :

- une unité d'oxydation,
- un analyseur infrarouge,
- éventuellement un système d'élimination du carbone inorganique, s'il n'est pas inclus dans l'appareillage.

– Verrerie courante de laboratoire soigneusement lavée et si possible passée au four à 500 °C pendant 3 heures pour éliminer toute trace de matière organique.

– Dispositif de filtration sur membrane (porosité 0,45 μm) pour séparer si nécessaire le carbone particulaire.

– Oxygène pur (exempt de dioxyde de carbone ou d'hydrocarbures).

Réactifs

– Utiliser de l'eau ultra-pure.

– Solution mère étalon d'hydrogénophtalate de potassium contenant 1 g/L de carbone organique :

hydrogénophtalate de potassium		0,2128 g
eau ultra-pure	q.s.p.	100 mL

1 mL de cette solution correspond à 1 mg de carbone.

Cette solution peut se conserver 1 mois à l'obscurité à 4 °C.

– solutions filles étalons d'hydrogénophtalate de potassium.

Ces solutions filles seront préparées chaque jour pour l'étalonnage de l'appareil, par dilution dans l'eau ultra-pure de la solution mère. Les concentrations requises variant d'un appareil à l'autre, il est conseillé de se référer aux préconisations du fabricant.

Ces solutions étalons diluées seront préparées avec soin et il est important lors de cette préparation de s'affranchir de tout risque de contamination par des traces de matière organique.

Mode opératoire

Se reporter à la notice d'utilisation du matériel utilisé.

Étalonnage de l'appareil

L'appareillage sera étalonné en suivant les indications du constructeur à l'aide des solutions filles d'hydrogénophtalate de potassium de concentrations adaptées. L'eau ultra-pure utilisée pour la préparation des solutions servira de blanc.

Détermination

Si l'échantillon est homogène et ne présente pas de particules en suspension, on pourra procéder à l'analyse du carbone organique total (COT). Une filtration préalable sur une membrane filtrante d'une porosité de 0,45 μm (adaptée à la détermination du carbone pour éviter le relargage de matières organiques) permet la détermination du carbone organique dissous (COD).

L'analyse de l'échantillon est précédée d'une élimination du carbone inorganique, en suivant la notice du constructeur si l'appareil dispose d'une unité adaptée, ou en procédant comme suit :

– dans un tube à essai, introduire 10 à 20 mL d'échantillon,

– acidifier (pH < 2) avec 2 à 3 gouttes d'acide concentré (acide phosphorique concentré, sauf indication contraire du constructeur),

– dégazer par barbotage pendant 10 à 15 minutes sous courant gazeux (azote ou oxygène exempt de dioxyde de carbone).

– L'échantillon ainsi traité est alors injecté dans l'appareillage pour analyse.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes de carbone par litre d'eau.

La majorité des appareils présents sur le marché possède un système de traitement et d'acquisition des données (calcul de la concentration à partir des valeurs d'étalonnage, moyenne, écarts type).

Remarques

– L'échantillon devra être prélevé dans un flacon en verre soigneusement nettoyé. Acidifié à pH 2 (part exemple avec de l'acide phosphorique), l'échantillon pourra être conservé pendant 7 jours à 4 °C.

– La séparation du carbone soluble et du carbone insoluble peut s'effectuer par filtration sur membrane appropriée (0,45 μm) n'introduisant pas de matières organiques.

– Certains appareils permettent la détermination du carbone organique total même en présence de particules de grandes dimensions. Pour cela, un volume connu d'échantillon brut est introduit dans une ampoule en présence de persulfate de potassium et d'acide phosphorique. L'anhydride carbonique dissous et celui des carbonates est éliminé par un balayage à l'oxygène ; après oxydation dans l'ampoule scellé, l'anhydride carbonique formé est dosé comme ci-dessus.

– Au cours des opérations ne pas utiliser de tubes en matière plastique.

– Les résultats sont satisfaisants si le *p*H est compris entre 2 et 10 et la teneur en sels inférieure à 5 %. Les chlorures n'interfèrent pas mais détruisent plus rapidement les catalyseurs.

– Avec certains systèmes d'oxydation (oxydation chimique à basse température par exemple), certaines substances peuvent être difficilement oxydées (lignines, substances humiques…) et échapper ainsi partiellement au dosage.

Méthodes de référence

NF EN 1484 (juillet 1997). Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (TOC) et du carbone organique dissous (COD) (indice de classement T90-102).

ISO 8245 (mars 1999). Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (COT) et du carbone organique dissous (COD).

T 90-551 (décembre 1988). Évaluation des caractéristiques des analyseurs de carbone organique total.

9.5 Carbone organique dissous biodégradable (CODB)

La teneur en carbone organique dissous biodégradable (CODB) représente un paramètre clé dans le contrôle de la stabilité biologique des eaux dans les réseaux de distribution d'eaux potables.

Deux méthodes d'évaluation de ce paramètre se sont développées en parallèle et ont fait l'objet de normes expérimentales de l'AFNOR. Les différences résident d'une part dans le choix de l'inoculum bactérien (bactéries fixées sur du sable ou bactéries en suspension) et d'autre part dans la durée du test (7 à 10 jours avec les bactéries fixées et 28 jours en présence de bactéries libres).

Ces méthodes sont en particulier applicables pour l'étude des eaux potables (suivi des procédés de traitement et évolution en réseau de distribution). Elles sont également utilisables pour le suivi de la qualité des eaux superficielles et éventuellement des eaux résiduaires.

■ Définitions

Carbone organique dissous (COD)

Quantité de carbone exprimée en mg/L présent dans les matières organiques dissoutes, après filtration d'un échantillon d'eau sur une membrane de porosité 0,45 µm.

Carbone organique dissous biodégradable (CODB)

Quantité maximum de carbone organique dissous exprimée en mg/L consommée par la biomasse pendant la durée d'incubation. Elle est définie comme étant la différence entre le COD en début d''expérience et le COD minimum observé au cours de l'incubation.

Carbone organique dissous non biodégradable

Quantité de carbone organique dissous exprimée en mg/L, non consommée pendant la durée d'incubation.

■ Préparation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés dans des flacons de verre exempts de traces de carbone organique, conservés à l'obscurité et à + 4 °C environ. Les essais doivent être effectués le plus rapidement possible et au maximum dans les 24 h suivant le prélèvement.

Aux échantillons d'eaux chlorées, oxydées ou bromées, on ajoutera du thiosulfate de sodium à raison de 17,5 mg/L.

9.5.1 Méthode par bactéries fixées

■ Principe

Évaluation de la fraction du carbone organique dissous biodégradable par des bactéries fixées sur du sable biologiquement actif (SBA).

L'échantillon d'eau à analyser est mis au contact de SBA. Le carbone organique dissous de l'échantillon est mesuré au début de l'essai, et de préfé-

rence chaque jour, au moyen d'un analyseur de carbone organique. L'expérience est arrêtée lorsque la valeur du COD mesuré a atteint une valeur minimale.

Cette valeur correspond au carbone organique dissous non biodégradable. Elle est généralement atteinte en 5 à 7 jours. La quantité de carbone organique dissous biodégradable (CODB) est obtenue par différence entre le COD au début de l'essai et le COD minimal atteint au cours de l'essai.

☐ Matériel spécial

Matériel biologique

Sable biologiquement actif : sable de quartz colonisé par une biomasse bactérienne et provenant par exemple des filtres à sable des stations de potabilisation (sans oxydant résiduel). Ce sable doit être abondamment rincé avant utilisation avec une eau exempte de carbone organique puis rincé avec l'échantillon (3 volumes d'échantillon pour un volume de sable biologiquement actif) et égoutté.

Matériel de laboratoire

– Verrerie.

Fioles jaugées,

Flacons en verre,

Toute la verrerie, bouchons, joints... devant entrer en contact avec l'échantillon et les solutions d'essai sera exempte de carbone organique ; elle sera donc passée au four à 525 °C pendant au moins 3 h, et rincée à l'eau distillée exempte de carbone.

– Analyseur de carbone présentant une limite de sensibilité inférieure à 0,1 mg C/L et une précision d'au moins ± 0,05 mg C/L.

– Enceinte pour incubation (40 ° ± 2 °C), exempte de contamination carbonnée.

☐ Réactifs

– Eau ultra-pure contenant moins de 0,2 mg de carbone organique dissous (COD).

– Milieu d'essai : eau minérale présentant une teneur d'environ 0,2 mg/L d'azote et 0,02 mg/L de phosphore et une teneur inférieure à 0,2 mg/L de COD.

– Solution mère d'acétate de sodium à 200 mg/L de COD.
Dissoudre 1,133 g d'acétate de sodium dans 1 L de milieu d'essai.

– Solution étalon à 2 mg/L de COD.
Diluer à 1 % la solution mère d'acétate de sodium dans le milieu d'essai.

■ Mode opératoire

Le carbone organique dissous de l'échantillon est déterminé (soit COD_0).

Identifier les flacons d'incubation de la façon suivante :

– deux flacons F_{E_1} et F_{E_2}, échantillon à analyser

– un flacon de contrôle de l'activité de l'inoculum, F_C

– un flacon de contrôle de l'effet inhibiteur de l'échantillon : F_I.

Introduire dans chaque flacon :

	SBA	Échantillon	Solutions d'acétate de sodium	
			à 200 mg C/L	à 2 mg C/L
F_I	100 g	300 mL	3 mL	–
F_C	100 g	–	–	300 mL
F_{E_1} ou F_{E_2}	100 g	300 mL	–	–

Après environ 5 min de contact, prélever une fraction aliquote dans chaque flacon et déterminer son COD_1.

Si la différence entre le COD_0 et le COD_1 est supérieure à 0,1 mg C/L, renouveler l'essai en procédant en particulier à de nouveaux rinçages du SBA.

Les flacons sont fermés puis mis en incubation à l'obscurité et à 20 °C.

Chaque jour, doser le COD pour chaque flacon (effectuer au moins deux mesures par flacon).

Poursuivre l'expérimentation jusqu'à l'obtention d'une valeur de COD minimum (COD_t) confirmée pendant 2 jours.

Calculs et expression des résultats

Déterminer pour chaque flacon le carbone organique dissous biodégradable CODB, exprimé en mg/L selon la formule

$$CODB = COD_0 - COD_t$$

COD_0 = Concentration moyenne en COD au temps 0 (avant ajout de l'inoculum) dans chaque flacon, exprimée en mg/L.

COD_t = Concentration moyenne du COD minimum atteint au cours de l'incubation de chaque flacon, exprimée en mg/L.

Exprimer le résultat de CODB (mg/L) dans l'échantillon sous forme de la moyenne des valeurs de CODB enregistrées dans chaque flacon F_E.

Validité des résultats

L'essai est considéré comme valable si :

– la concentration en carbone organique dissous biodégradable dans le flacon F_C, calculée comme ci-dessus est de 2 mg ± 0,5 mg C/L ;

– la concentration en carbone organique dissous biodégradable dans le flacon F_I est égale à [CODB (F_E) + CODB (F_C)] ± 25 % ;

– la différence observée entre les CODB dans les flacons F_E est ⩽ 25 %.

Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit consigner un certain nombre d'indications :

– la référence éventuelle à une norme ;

– toute information nécessaire à l'identification de l'échantillon ;

– toute information concernant la préparation (filtration, etc.) ;

– la date de prélèvement de l'échantillon, durée et mode de conservation ;

– la date de l'analyse ;

– les conditions d'incubation (aération ou non) ;

– les concentrations en COT, COD, CODB de l'échantillon soumis à l'essai, ainsi que les résultats obtenus pour les essais de contrôle de l'activité de l'inoculum (F_C) et de contrôle d'inhibition (F_I) ;

– les raisons d'un éventuel rejet des résultats de l'essai (*voir validité des résultats*) ;

– tout incident susceptible d'avoir agi sur les résultats.

9.5.2 Méthode par bactéries en suspension

■ Principe

En présence d'un inoculum de bactéries en suspension prélevé dans le milieu naturel, la matière organique biodégradable de l'échantillon est consommée par la biomasse au cours d'une incubation de 28 jours à 20 °C.

La teneur en carbone organique dissous biodégradable (CODB), dans ces conditions d'essai correspond à la différence entre les quantités de carbone organique dissous (COD) mesurées au début (COD_0) et en fin d'essai (COD_{28}).

$$CODB = COD_0 - COD_{28}$$

La matière organique résiduelle en fin d'incubation correspond au carbone dissous non biodégradable.

☐ Matériel

Tout le matériel utilisé sera choisi pour éviter ou limiter au maximum les risques de relargage de carbone organique.

– dispositif de filtration sur membrane, équipé de membranes de 0,45 µm et de 2 µm. L'ensemble est soigneusement rincé à l'eau ultra-pure avant utilisation,

– verrerie lavée à l'eau déionisée puis passée au four à 525 °C pendant au minimum 3 heures et en particulier des flacons d'essai en verre borosilicaté d'environ 250 mL, munis de bouchons avec des joints en PTFE, soigneusement lavés,

– analyseur de carbone permettant l'analyse de faibles teneurs en COD (<10 mg/L) et présentant une limite de sensibilité de 0,1 mg/L, avec une précision d'au moins 0,05 mg/L,

– enceinte d'incubation maintenue à une température constante de 20 °C (+/- 2 °C).

☐ Réactifs

Voir méthode par bactéries fixées (§ 9.5.1).

■ Mode opératoire

– Préparation de l'échantillon :

Filtrer un volume suffisant d'échantillon (> 700 mL) sur une membrane de 0,45 µm.

Prélever un échantillon pour doser le COD de cette eau (COD_0). Effectuer au minimum deux mesures.

– Préparation de l'inoculum :

Une eau de surface, fraîchement prélevée (< 24 heures), et présentant un COD inférieur à 5 mg/L constitue l'inoculum bactérien. Il est filtré avant utilisation sur une membrane de 2 μm.

– Réalisation des essais :

Chaque essai est réalisé sur un minimum de 4 flacons et comporte :

- un flacon de contrôle de l'activité de l'inoculum (noté F_C),
- un flacon pour contrôler l'éventuel effet inhibiteur de l'échantillon (noté F_I),
- au minimum 2 flacons d'essai contenant l'échantillon à analyser (notés F_{E_1} et F_{E_2}).

Ces flacons sont préparés en introduisant les volumes suivants (en mL) de réactifs :

	Échantillon	Inoculum	Solutions d'acétate de sodium	
			à 200 mg/L en carbone organique	à 2 mg/L en carbone organique
F_C	0	4	0	200
F_I	200	4	2	0
F_{E_1} ou F_{E_2}	200	4	0	0

Homogénéiser le contenu des flacons.

Prélever dans chaque flacon un volume suffisant pour contrôler la teneur en COD (COD_0). Effectuer au minimum 2 mesures sur chaque échantillon. La concentration COD_0 correspond à la valeur moyenne pour chaque échantillon, calculée sur des valeurs présentant des écarts inférieurs à 0,1 mg/L.

Boucher les flacons et mettre à incuber à 20 °C, à l'obscurité, pendant 28 jours.

En fin d'incubation, prélever dans chaque flacon un échantillon pour le dosage du COD (COD_{28}). Effectuer au minimum 2 mesures sur chaque échantillon. La concentration COD_{28} correspond à la valeur moyenne pour chaque échantillon, calculée sur des valeurs présentant des écarts inférieurs à 0,1 mg/L.

Expression des résultats

Pour chaque flacon d'essai F_{En}, la teneur en carbone organique dissous biodégradable, exprimée en mg/L est donnée par la formule :

$$CODB = COD_0 - COD_{28}$$

Avec :

COD_0 : concentration moyenne en COD au temps 0 en mg/L.

COD_{28} : concentration moyenne en COD au temps 28 jours en mg/L.

La teneur en CODB (en mg/L) de l'échantillon est alors calculé en faisant la moyenne des valeurs obtenues pour chaque flacon F_{En}.

Validité des résultats

Se reporter au § A-9.5.1

Procès verbal d'essai

Se reporter au § A-9.5.1.

Méthodes de référence

AFNOR XPT 90-318 (avril 1995). Évaluation en milieu aqueux du carbone organique dissous biodégradable : méthode par bactéries en suspension (indice de classement T90-318).

AFNOR XPT 90-319 (avril 1995). Évaluation en milieu aqueux du carbone organique dissous biodégradable : méthode par bactéries fixées (indice de classement T90-319).

9.6 Azote total et azote organique

L'azote présent dans l'eau peut avoir un caractère organique ou minéral. L'azote organique est principalement constitué par des composés tels que des protéines, des polypeptides, des acides aminés, de l'urée. Le plus souvent ces produits ne se retrouvent qu'à de très faibles concentrations. Quant à l'azote minéral (ammoniaque, nitrates, nitrites), il constitue dans les eaux naturelles la majeure partie de l'azote total ou azote global (NGL).

$NGL = N_{total} = N_{organique} + N_{minéral} = N_{organique} + N\text{-}NH_4^+ + N\text{-}NO_2^- + N\text{-}NO_3^-$

Les méthodes développées à ce jour ne permettent pas de déterminer directement et spécifiquement l'azote organique présent dans les eaux.

Ainsi, le dosage de l'azote Kjeldahl (NK), qui fait appel à une minéralisation de l'échantillon en présence d'un catalyseur au sélénium, permet de déterminer les composés non oxydés de l'azote :

$$NK = N_{organique} + N\text{-}NH_4^+ = \text{azote réduit}$$

Mais la méthode Kjeldahl ne permet pas d'accéder à la totalité de l'azote organique et de nombreux composés organiques ne sont pas dosés ou sont partiellement dosés (composés nitrés, nitrosés, oximes, hydrazine et dérivés, hétérocycles azotés…).

La teneur en azote total (NT ou NGL) d'une eau peut encore être approchée par une méthode mettant en œuvre une minéralisation oxydante par le peroxodisulfate. Mais dans ce cas encore, tous les composés organiques azotés ne sont pas convertis en nitrates lors de l'oxydation.

Une troisième méthode fait appel à une oxydation en oxydes d'azote par combustion catalytique. Avec cette méthode, l'oxydation des composés organiques est globalement plus importante, sans toutefois être quantitative.

Dans tous les cas, si l'on souhaite accéder à la teneur en azote organique, il sera nécessaire de quantifier séparément l'azote ammoniacal (pour le

NK), ainsi que l'azote de nitrites et des nitrates (pour les 2 autres méthodes). Dans les eaux naturelles, compte tenu en particulier des teneurs significatives en nitrates, la détermination de la teneur en azote organique sera donc relativement imprécise.

9.6.1 Azote Kjeldahl (NK)

■ Principe

La méthode de dosage de l'azote Kjeldahl (NK) permet d'analyser globalement la somme de l'azote organique et de l'azote ammoniacal présent dans l'échantillon :

$$NK = N_{organique} + N\text{-}NH_4^+$$

Le principe est le suivant :

– minéralisation de la matière organique en milieu acide, en présence de catalyseur et à température élevée,

– ajout d'une solution d'hydroxyde de sodium pour déplacer en ammoniac l'azote ammoniacal formé,

– entraînement à la vapeur (distillation) de l'ammoniac,

– dosage par titrimétrie.

L'azote ammoniacal seul est ensuite dosé selon le même principe, sans effectuer l'étape de minéralisation.

On peut alors déterminer par différence l'azote organique :

$$N_{organique} = NK - N\text{-}NH_4^+$$

☐ Matériel

– Matras Kjeldahl.

– Unité de minéralisation avec système de récupération des fumées.

– Unité d'entraînement à la vapeur (distillation).

– Microburette de 5 mL ou burette de précision de 10 mL.

☐ Réactifs

– Acide sulfurique concentré (98 % – densité 1,84).

– Acide borique : solution à 10 g/L.

– Acide sulfurique : solution titrée à 0,05 mol/L.

– Hydroxyde de sodium : solution à environ 400 g/L.

– Catalyseur de minéralisation.

On utilisera un mélange commercial prêt à l'emploi (spécial azote Kjeldahl) en poudre ou en granulés. On peut également préparer par broyage un mélange homogène contenant 995 g de sulfate de potassium et 5 g de sélénium.

– Solution de rouge de méthyle et de vert de bromocrésol (= Indicateur mixte ou indicateur de Tashiro) :

Dissoudre 100 mg de rouge de méthyle et 500 mg de vert de bromocrésol dans 500 mL d'éthanol à 95 %.

Mode opératoire

Analyse de l'azote Kjeldahl

MINÉRALISATION

Introduire 100 mL d'échantillon dans un matras Kjeldahl.

Ajouter quelques billes de verre pour réguler l'ébullition.

Ajouter 1 g de catalyseur.

Ajouter 10 mL d'acide sulfurique concentré.

Placer dans le bloc de minéralisation. Recouvrir par le système d'extraction des fumées et brancher le système d'extraction.

Porter lentement à ébullition et évaporer jusqu'à apparition de fumées blanches. Forcer ensuite le dosage pendant environ 2 heures. Le liquide résiduel doit être limpide ; dans le cas contraire, recommencer en diminuant le volume d'échantillon.

Laisser refroidir quelques minutes.

DISTILLATION

Placer le matras Kjeldahl sur le système d'entraînement à la vapeur.

Ajouter 50 mL d'hydroxyde de sodium à 400 g/L.

Pour recueillir le distillat, on placera à la sortie de l'appareillage un erlenmeyer de 250 mL contenant 10 mL d'acide borique à 10 g/L.

Admettre la vapeur pendant environ 20 minutes.

DOSAGE

Dans l'erlenmeyer qui a recueilli le distillat, ajouter 2 à 3 gouttes de l'indicateur mixte.

Titrer avec la solution titrée d'acide sulfurique à 0,05 mol/L.

Analyse de l'azote ammoniacal

On procédera exactement de la même manière que pour l'azote Kjeldahl, mais en supprimant l'étape de minéralisation.

Le dosage de l'azote ammoniacal peut également s'effectuer par l'une des méthodes décrites au § A-7.3.

Résultats

Examen des équations chimiques qui se produisent au cours des différentes étapes :

Minéralisation :

Matière organique + Acide + catalyseur → NH_4^+ + autres produits de réaction

Passage de la forme ionisée à la forme moléculaire
(entraînable à la vapeur) :

$$NH_4^+ + OH^- \rightarrow NH_3$$

Entraînement à la vapeur de NH_3 et piégeage dans l'acide borique :

$$NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-$$

Dosage par l'acide sulfurique en présence d'indicateur coloré :

$$2\ (HBO_3^-, NH_4^+) + H_2SO_4 \rightarrow 2\ H_3BO_3 + (NH_4)_2SO_4$$

BILAN

1 mole d'acide sulfurique permet de dosage de 2 moles de NH_4^+.

La concentration en azote Kjeldahl ou en azote ammoniacal, exprimée en mg/L d'azote (N) est donnée par la formule :

$$\frac{2(V_1 - V_0)\ c\ .\ 1\,000\ .\ 14}{V}$$

Avec :

– c = concentration (en moles/L) de la solution d'acide sulfurique utilisée pour le dosage.

– V_1 = volume (en mL) d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'échantillon.

– V_0 = volume (en mL) d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'essai à blanc.

– V = volume (en mL) de la prise d'essai.

Remarques

– pour améliorer la précision, on pourra utiliser une solution d'acide sulfurique à 0,01 mol/L, ou encore doser l'azote ammoniacal libéré par la méthode colorimétrique au bleu d'indophénol (voir dosage de l'ammoniac § A-7.3),

– dans les eaux naturelles, les teneurs en azote organique déterminées par la méthode de Kjeldahl sont le plus souvent comprises entre 0,5 et 1,5 mg/L,

– de nombreux appareillages sont disponibles dans le commerce pour la minéralisation des échantillons et pour l'entraînement à la vapeur (distillation).

9.6.2 Azote par minéralisation au peroxodisulfate

■ Principe

Les composés azotés présents dans l'eau sont oxydés en nitrates dans un autoclave par une solution alcaline de persulfate. Les nitrates sont ensuite réduits en nitrites et dosés par l'une des méthodes décrites au § A-7.39.

☐ Matériel spécial

– Autoclave permettant d'appliquer des pressions de l'ordre de 200 kPa..

– Flacons de minéralisation en PTFE résistant à des pressions de 200 kPa.

☐ Réactifs

– Solution de minéralisation :

persulfate de potassium	3 g
hydroxyde de sodium 0,5 *N*	50 mL
eau distillée ou qualité équivalente	100 mL

– Réactifs utilisés pour le dosage des nitrites.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Se reporter au dosage des nitrites.

Mode opératoire

Introduire dans un flacon stérilisable 10 mL d'échantillon et 15 mL de solution de minéralisation. Boucher le flacon, le passer à l'autoclave à 120 °C à la pression de 200 kPa pendant 45 min. Après refroidissement, prélever 5 mL et les introduire dans une fiole jaugée de 200 mL. Ajouter 5 mL de solution tampon, ajuster le volume à 200 mL. Effectuer le dosage des nitrates sur cette solution.

Expression des résultats

La teneur en azote total est exprimée en milligrammes de *N* par litre.

9.6.3 Dosage de l'azote global par chimiluminescence après oxydation en oxydes d'azote

Principe

L'azote contenu dans l'échantillon est oxydé en monoxyde d'azote NO par combustion catalytique à haute température. Une réaction avec l'ozone du monoxyde d'azote formé permet une quantification par chimiluminescence, les molécules excitées (dioxyde d'azote NO_2^*) produites par la réaction chimique avec l'ozone conduisant à une phosphorescence (restitution de l'énergie par émission de photons).

$$NO \xrightarrow{O_3} NO_2^* \longrightarrow NO_2 + \text{photons}$$

Cette méthode permet d'accéder à l'azote global (NGL) ou Total (NT) :

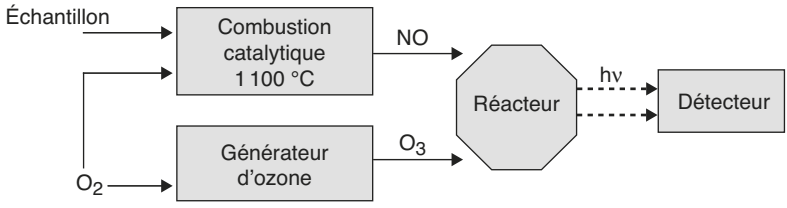
$$NGL = N_{total} = N_{organique} + N_{minéral}$$

$$= N_{organique} + N\text{-}NH_4^+ + N\text{-}NO_2^- + N\text{-}NO_3^-$$

Mais tous les composés organiques de l'azote ne sont pas transformés quantitativement en oxydes d'azote, bien que les taux de récupération soient le plus souvent compris entre 85 et 95 %.

Matériel

Appareillage spécifique pour la détermination de l'azote total comprenant une unité d'oxydation, un réacteur d'ozonation et un système de détection par chimiluminescence, tel qu'illustré par le schéma ci-dessous.



NB : De nombreux appareils commercialisés actuellement pour l'analyse du carbone organique permettent le dosage simultané de l'azote total par cette méthode.

☐ **Réactifs**

Solutions mères d'azote pour l'étalonnage :

– azote ammoniacal : $N\text{-}NH_4^+$ = 1,000 g/L :

Sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$ préalablement séché à 105 °C		4,717 g
Eau déionisée	q.s.p.	1000 ml

– nitrates : $N\text{-}NO_3^-$ = 1,000 g/L :

Nitrate de potassium, préalablement séché à 105 °C		7,219 g
Eau déionisée	q.s.p.	1000 ml

– Norganique = 1,000 g/L

Acide nicotinique, préalablement séché à 105 °C		8,793 g
Eau déionisée	q.s.p.	1000 ml

■ Mode opératoire

Suivre les instructions figurant sur la notice de l'appareillage utilisé pour réaliser l'étalonnage de l'appareil et procéder à l'analyse des échantillons.

Les gammes de concentration dépendent de l'instrument utilisé et des volumes injectés.

■ Expression des résultats

La teneur en azote total est exprimée en milligrammes d'azote (N) par litre.

Méthodes de références

NF EN 25663 (janvier 1994). Qualité de l'eau - Dosage de l'azote Kjeldahl : méthode après minéralisation au sélénium (indice de classement T90-110).

NF EN ISO 11905-1 (juillet 1998). Qualité de l'eau – Dosage de l'azote – Partie 1 : Méthode par minéralisation oxydante au peroxodisulfate (indice de classement T 90-061).

NF EN 12260 (janvier 2004). Qualité de l'eau – Dosage de l'azote : Dosage de l'azote lié (TN sub b) après oxydation en oxydes d'azote (indice de classement T 90-060).

9.7 Composés phosphorés et phosphore total

■ Préambule

Le phosphore peut exister dans les eaux en solution ou en suspension, à l'état minéral ou organique. Les composés phosphorés qui, sans hydrolyse ou minéralisation, répondent au test spectrophotométrique sont considérés comme étant des orthophosphates. L'hydrolyse en milieu acide fait apparaître le phosphore hydrolysable et la minéralisation, le phosphore organique. Chaque fraction (phosphore en solution ou en suspension) peut être séparée analytiquement en orthophosphates, phosphore hydrolysable et phosphore organique.

$$P_{total} = P_{organique} + P_{minéral}$$

$$= P_{organique} + (P_{polyphosphates} + P_{orthophosphates})$$

Les orthophosphates sont analysables directement :

– par spectrophotométrie après formation d'un complexe phosphomolybdique, soit directement, soit par analyse en flux continu,

– soit par chromatographie ionique.

Ces méthodes de dosage sont développées au § A-7.40.

– Les polyphosphates sont transformés par hydrolyse acide en orthophosphates et dosés par l'une des méthodes citées ci-dessus. On quantifie ainsi la somme de polyphosphates et des orthophosphates initialement présents.

– Une minéralisation transforme le phosphore organique en orthophosphates et permet ainsi d'accéder au phosphore total :

$$P_{total} = P_{organique} + P_{polyphosphates} + P_{orthophosphates}$$

Cette minéralisation s'effectue soit par oxydation au persulfate, soit par digestion à l'aide d'un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique.

La spectrométrie de plasma par couplage inductif (ICP) permet également de doser le phosphore total.

La teneur en phosphore organique sera alors obtenue par différence.

Suivant les cas, la teneur en phosphates peut être exprimée en mg/L de PO_4 ou de P_2O_5

$$1 \text{ mg/L } PO_4^{3-} = 0{,}747 \text{ mg/L } P_2O_5 = 0{,}326 \text{ mg/L P}$$

■ Prélèvement

Effectuer le dosage des orthophosphates dans les 24 heures qui suivent le prélèvement après avoir pris la précaution de refroidir les échantillons à 4 °C sur le lieu de prélèvement.

Acidifier à l'acide sulfurique (*q.s.p. p*H $<$ 2) les échantillons destinés au dosage des polyphosphates et du phosphore total si les déterminations sont effectuées au-delà de 48 heures.

Pour différencier le phosphore soluble du phosphore insoluble, filtrer l'échantillon sur membrane 0,45 μm et effectuer le dosage immédiatement après filtration.

■ Nettoyage de la verrerie

Le nettoyage de la verrerie est très important. Les détergents du commerce renfermant des phosphates ne devront pas être utilisés. Laver la verrerie à l'acide chlorhydrique dilué au 1/10 et la rincer soigneusement à l'eau désionisée.

9.7.1 Détermination des phosphates hydrolysables

■ Principe

Les polyphosphates tels que le pyro-, méta- ou tripolyphosphate, sont transformés par hydrolyse, en milieu acide minéral concentré, en orthophosphates et dosés sous cette forme.

Cette méthode détermine la somme des polyphosphates et de l'orthophos-

phate contenus dans l'échantillon. La différence entre l'orthophosphate dosé avant et après hydrolyse donne la quantité de polyphosphates en équivalents de phosphates.

☐ **Réactifs**

– Solution d'acide sulfurique à 20 % (V/V).

– Solution d'hydroxyde de sodium à 120 g/L.

■ Mode opératoire

Prélever 100 mL d'eau limpide, ajouter 10 mL d'acide sulfurique et procéder à l'hydrolyse pendant 30 minutes à ébullition. Après refroidissement, amener à environ *p*H 2 avec la solution d'hydroxyde de sodium. Ramener le volume à 100 mL avec de l'eau permutée. Effectuer le dosage des phosphates en employant l'une des méthodes présentées en A-7.40.

■ Expression des résultats

Déterminer la quantité de phosphates sur un échantillon non traité de l'eau à analyser. Puis retrancher cette quantité de la somme des phosphates-polyphosphates trouvée après hydrolyse.

Les teneurs en polyphosphates s'expriment en mg/L d'ions orthophosphates PO_4^{3-} ou éventuellement en mg/L d'anhydride phosphorique.

1 mg ions PO_4^{3-} = 0,7475 mg d'anhydrique phosphorique P_2O_5 .

Remarques

– Dans le cas où les teneurs en phosphates-polyphosphates sont supérieures à 10 mg/L en P_2O_5 , diluer selon la nécessité au 1/2, 1/4, 1/10.

– Effectuer le dosage aussitôt après le prélèvement, les polyphosphates se détruisant au cours du temps et par la chaleur.

– L'hydrolyse peut aussi se pratiquer à l'autoclave durant 30 minutes à la pression de 1 à 1,4 kg/cm^2.

– Les polyphosphates provenant des agents de surface doivent être convertis en orthophosphates par traitement à l'hydrogénosulfate de sodium.

9.7.2 Détermination du phosphore total et du phosphore organique

■ Principe

Par oxydation au persulfate en milieu acide, de nombreux composés organiques sont minéralisés en orthophosphates. Une minéralisation plus énergique peut être effectuée avec un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique.

Les orthophosphates formés seront analysés par l'une des méthodes décrites au chapitre A-7.

Les composés phosphorés organiques sont obtenus par différence entre le phosphore total et la somme des orthophosphates et des polyphosphates :

$$P_{organique} = P_{total} - (P_{polyphosphates} + P_{orthophosphates})$$

☐ **Matériel**

– Tubes de minéralisation de 200 mL (type matras Kjeldahl).
– Unité de minéralisation (plaque chauffante, bloc chauffant, bain de sable…).
– Hotte ventilée.

■ Minéralisation de l'échantillon

MÉTHODE AU PERSULFATE DE SODIUM

Introduire 40 mL d'échantillon dans le tube de minéralisation (ou un volume plus faible si la concentration en phosphore total est élevée).

Ajouter 4 mL de persulfate de sodium ($K_2S_20_8$) à 50 g/L.

Faire bouillir doucement pendant environ 30 minutes en ajoutant régulièrement de l'eau déionisée pour maintenir le volume entre 25 et 35 mL.

Refroidir puis ajuster le pH entre 3 et 10 à l'aide d'hydroxyde de sodium à environ 2 mol/L.

Ce mode opératoire sera pratiqué sur tous les échantillons et sur un essai à blanc (en remplaçant l'échantillon par le même volume d'eau déionisée).

MÉTHODE À L'ACIDE NITRIQUE/ACIDE SULFURIQUE

Il est important d'effectuer cette opération sous une hotte bien ventilée.

Introduire 40 mL d'échantillon dans le tube de minéralisation (ou un volume plus faible si la concentration en phosphore total est élevée).

Ajouter avec précaution 2 mL d'acide sulfurique concentré (d = 1,84) et agiter.

Ajouter un régulateur d'ébullition (quelques billes de verre par exemple) et chauffer doucement jusqu'à l'apparition de fumées blanches.

Refroidir, puis ajouter goutte à goutte 0,5 mL d'acide nitrique concentré (d = 1,40). Agiter, puis chauffer jusqu'à disparition des fumées rousses.

Si la solution obtenue n'est pas limpide et incolore, reprendre ce traitement à l'aide d'acide nitrique.

Refroidir puis ajouter avec précaution 10 mL d'eau distillée tout en agitant. Chauffer jusqu'à l'apparition de fumées blanches. Refroidir puis ajouter avec précaution 20 mL d'eau déionisée tout en agitant. Ajuster le pH à une valeur comprise entre 3 et 10 à l'aide d'hydroxyde de sodium à environ 2 mol/L.

Ce mode opératoire sera pratiqué sur tous les échantillons et sur un essai à blanc (en remplaçant l'échantillon par le même volume d'eau déionisée).

■ Dosage des orthophosphates obtenus

Le dosage des orthophosphates obtenus par minéralisation se réalise par l'une des méthodes décrites au § A-7.40 (spectrophotométrie, flux continu, chromatographie ionique), en utilisant un étalonnage approprié.

Préalablement à ce dosage, l'échantillon minéralisé sera récupéré et transféré dans une fiole jaugée adaptée au protocole choisi (en principe 50 mL) et on complétera au volume par de l'eau déionisée. Dans le cas du dosage des orthophosphates par spectrophotométrie (méthode au molyb-

date d'ammonium), cet ajustement au volume de 50 mL est réalisé après l'ajout des réactifs.

Dans tous les cas, on tiendra compte de cette dilution lors de l'expression des résultats.

Expression des résultats

Déterminer la concentration en orthophosphates de chacun des échantillons minéralisés (eau à analyser et essai à blanc) à l'aide de la courbe d'étalonnage de la méthode mise en œuvre. L'exprimer en mg/l de phosphore.

La concentration en phosphore total, exprimée en mg/L de phosphore (mg/L P) se calcule alors comme suit :

$$P_{total}\ (mg/L\ P) = (C_e - C_0).\frac{V_1}{V_0}$$

C_e : concentration en orthophosphates (exprimée en mg/L de P) déterminée avec un volume V_0 d'échantillon minéralisé.

C_0 : concentration en orthophosphates (exprimée en mg/L de P) déterminée avec un volume V_0 d'essai à blanc minéralisé.

V_1 : volume (en mL) de la fiole jaugée utilisée pour la mise au volume de l'échantillon minéralisé.

V_0 : volume (en mL) de la prise d'essai (en principe 40 mL).

Remarques

– Avec le dosage des orthophosphates par spectrophotométrie, le volume de prise d'essai de 40 mL permet d'analyser des concentrations inférieures à 0,8 mg/L de phosphore. Pour des teneurs plus élevées, diminuer ce volume ou diluer l'échantillon.

– Le rendement de minéralisation dépend de la nature des composés organohalogénés. Si la minéralisation semble incomplète avec le persulfate (liquide coloré ou trouble), on pourra réduire le volume de la prise d'essai ou procéder à une oxydation par le mélange acide nitrique/acide sulfurique.

– L'oxydation au persulfate n'a pas un bon rendement en présence de quantités élevées en matière organique.

– L'oxydation au persulfate peut se pratiquer dans un autoclave, à une température comprise entre 115 et 120 °C pendant 30 minutes.

– Pour déterminer le phosphore total dissous, filtrer l'échantillon avant l'analyse sur une membrane filtrante de porosité 0,45 μm, préalablement lavée avec 200 mL d'eau distillée chauffée entre 30 et 40 °C pour éliminer les phosphates.

Méthodes de référence

NF EN ISO 6878 (avril 2005). Qualité de l'eau – Dosage du phosphore : méthode spectrophotométrique au molybdate d'ammonium (indice de classement T90-023).

NF EN ISO 15587-1 (mai 2002). Qualité de l'eau – Digestion pour la détermination de certains éléments dans l'eau – Partie 1 : digestion de l'eau légale (indice de classement T90-137-1).

9.8 Composés organohalogénés (AOX)

Préambule

Parmi les composés organiques présents dans les eaux, les structures halogénées sont largement représentées. Dans les eaux naturelles, la présence de composés halogénés s'inscrit le plus souvent dans une origine anthropique, avec la présence de solvants organiques chlorés (dichloroéthane, trichloroéthylène, tétrachloroéthylène, tétrachlorure de carbone…) de pesticides (insecticides ou herbicides) organochlorés ou organobromés, de sous-produits de l'industrie chimique (hexachlorobenzène, hexachlorobutadiène, chlorophénols…), de polychlorobiphényls (PCB). Dans les eaux potables, ou encore dans les eaux des circuits de refroidissement ou des tours aéroréfrigérantes, la présence de structures organohalogénées résulte majoritairement de la désinfection par le chlore. Au cours de cette étape, le chlore réagit en effet sur la matière organique naturelle des eaux (substances humiques en particulier) pour former des composés organohalogénés (dont les trihalométhanes, les acides haloacétiques, les acétonitriles halogénés) par incorporation du chlore dans les molécules organiques par des mécanismes d'oxydation, de substitution ou d'addition.

Une évaluation globale de ces composés s'avère donc intéressante, soit pour évaluer la qualité des eaux superficielles ou la contamination des eaux souterraines par les composés organohalogénés, soit pour déterminer l'impact d'une désinfection (formation de sous-produits de désinfection).

Définitions

La mesure du TOX (*Total Organically bound Halides* ou composés organohalogénés totaux) donne la concentration totale en composés halogénés organiques (composés chlorés, bromés ou iodés).

Expérimentalement, cette mesure est souvent confondue avec celle des AOX (*Adsorbable Organically bound Halides* ou composés organohalogénés adsorbables), qui est réalisée après adsorption des composés organiques sur du charbon actif, et ne prend donc en compte que les composés retenus sur le charbon dans les conditions d'adsortpion.

Un chauffage à 50 °C, suivi d'un dégazage par l'azote permet de quantifier séparément les composés organohalogénés volatils (POX : *Purgeable Organically bound Halides*) ou de les éliminer pour le dosage des composés organohalogénés non volatils (NPOX : *Non Purgeable Organically bound Halides*).

Principe

La technique de dosage des AOX est basée sur la minéralisation par pyrolyse des composés organohalogénés, Elle se décompose en 4 étapes :

– concentration des composés organohalogénés par adsorption sur du charbon actif en poudre,

– élution des halogénures minéraux par lavage du charbon par une solution de nitrate de potassium,

– pyrolyse du charbon dans un four à haute température (800 °C) où les composés carbonés sont oxydés en CO_2 et la fraction halogénée en acides halogénés HX (avec X = Cl, Br ou I),

– transporté par un gaz vecteur dans une cellule de titration par microcoulométrie, l'acide halogéné HX formé est alors dosé.

Les concentrations sont exprimées en µg/L d'équivalent Cl^- (µg Cl/L).

Le principe du dosage microcoulométrique des ions halogénures est le suivant.

Les chlorures, bromures et iodures libérés réagissent au contact d'une solution argentique maintenue constante, en formant des sels d'halogénures insolubles. La chute en ions argent qui en résulte est automatiquement compensée par l'apport des ions formés coulométriquement à l'anode d'argent. Le courant passé dans l'anode donne la quantité exacte d'argent libérée, correspondant à la quantité d'halogène contenue dans l'échantillon.

☐ Prélèvements

Effectuer les prélèvements uniquement en flacon de verre de 1 litre. Ajouter immédiatement 50 mL de solution de thiosulfate pour réduire les oxydants tels que le chlore actif. Ajuster le *p*H entre 1,5 et 2 par addition d'acide nitrique. Remplir le flacon complètement et avec soin pour éviter la présence de bulles d'air. Analyser l'échantillon le plus rapidement possible après le prélèvement ou dans un délai ne dépassant pas 3 jours en le conservant à 4 °C.

☐ Matériel spécial

Plusieurs appareillages sont disponibles dans le commerce. Ils comportent généralement les équipements suivants.

– Appareil de combustion et de détection composé :

- pour la combustion : d'un four, capable d'atteindre 950 °C au moins, équipé d'un tube en quartz de 2 à 3 cm de diamètre et de 30 cm de longueur,
- d'un godet en quartz s'adaptant au tube,
- d'une cellule de mesure comprenant 4 électrodes,
- d'un microcoulomètre susceptible de mesurer 1 microgramme de chlore ± 10 %,
- d'un absorbeur rempli d'acide sulfurique servant à sécher le flux de gaz. Veiller à éviter tout refoulement.

– Unité d'absorption sur colonnes constituée :

- d'une pompe à piston munie d'un tuyau en PTFE.
- de tubes d'absorption de 2 à 3 mm de diamètre intérieur et de 40 à 50 mm de longueur, remplis d'environ 50 mg de charbon actif retenu entre 2 couches de laine de céramique.

– Tube d'alimentation en oxygène en métal ou en polytétrafluoroéthylène (PTFE) pour l'entraînement des acides halogénés.

– Flacons à sertir.

☐ Réactifs

S'assurer que la teneur en AOX de l'eau ultra-pure, des produits chimiques et des gaz utilisés est négligeable (< 3 µg Cl/L).

– Eau ultra-pure.

Conserver l'eau dans un flacon en verre sur du charbon actif en granulés.

– Charbon actif.

Du charbon actif convenant au dosage des AOX est disponible dans le commerce ; son indice d'iode doit être supérieur à 1 050.

– Acide nitrique (*d* = 1,40).

– Solution d'acide chlorhydrique à 0,1 mol/L.

– Acide sulfurique (*d* = 1,84).

– Solution mère de nitrate de sodium :

nitrate de sodium ($NaNO_3$)		17 g
acide nitrique (*d* = 1,4)		1,4 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Dans une fiole jaugée de 1 L, introduire le nitrate de sodium avec de l'eau ultra-pure. Après dissolution, ajouter 1,4 mL d'acide nitrique. Ajuster le volume à 1 litre.

– Solution de lavage.

Amener 50 mL de la solution mère de nitrate de sodium à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

– Solution de thiosulfate de sodium à 50 mg/L :

thiosulfate de sodium		50 mg
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

– Oxygène (gaz de combustion).

– Solution étalon de *p*-chlorophénol à 0,725 g/L :

p -chlorophénol (C_6H_5ClO)		0,725 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Cette solution correspond à 0,200 g/L de Cl^-.

– Solution fille étalon de *p*-chlorophénol.

Diluer au 1/200 la solution mère. Cette solution correspond à 1 mg/L de chlore organique.

– Solutions étalons de p-chlorophénol pour les vérifications de l'ensemble du protocole.

Diluer la solution fille de p-chlorophénol à 1 mg/L pour obtenir des concentrations se situant dans la gamme de travail de l'appareillage utilisé (entre 5 et 250 μg/L par exemple).

– Laine de céramique.

– Bandelettes analytiques pour identification et détermination semi-quantitative des chlorures. Une concentration en Cl^- actif supérieure à 1 g/L entraîne obligatoirement une dilution de l'échantillon.

– Solution d'électrolyte contenant :

perchlorate de sodium		10 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	250 mL
acide acétique		750 mL

– Nettoyant pour électrode d'argent.

■ Mode opératoire

Il est important de suivre soigneusement les instructions figurant sur la notice de l'appareillage. Il faudra prendre un soin particulier pour procéder à tous les essais de vérification nécessaires :

– contrôle du blanc,

– teneur en AOX dans le charbon actif en poudre,

– vérification quotidienne sur des solutions étalon de concentrations connues,

– contrôle des conditions de fonctionnement des appareillages (par exemple : température du four, débit de gaz, fonctionnement du microcoulomètre).

Le protocole qui suit n'est qu'indicatif et ne convient pas obligatoirement à tous les appareillages disponibles sur le marché.

Adsorption sur charbon actif

Ajouter à 100 mL d'échantillon acidifié 5 mL de solution mère de nitrate. Faire passer l'échantillon à travers une colonne de l'unité d'adsorption. Rincer la colonne avec 10 à 20 mL de solution de lavage. Placer le charbon actif humide et la laine de céramique dans un creuset qui est introduit automatiquement dans la nacelle.

Combustion

La température de la chambre de combustion doit être au moins de 950 °C.

Ouvrir l'alimentation en oxygène, régler le débit d'oxygène à 150 mL/min environ. Placer lentement le godet en quartz dans la zone chauffée du tube pour que l'humidité puisse s'échapper lentement.

Mesure au microcoulomètre

Effectuer une vérification du fonctionnement du microcoulomètre. Pour cela, injecter des volumes allant de 1 à 10 µL de la solution d'acide chlorhydrique 0,1 *N* directement dans la cellule de titrage. Mesurer la charge transférée pour chaque volume injecté. Établir une droite de régression d'après l'équation :

$$Q = aQ_t b$$

Q = Quantité mesurée de charge transférée, en coulombs.

Q_t = Quantité théorique de charge, en coulombs.

a = Pente de la droite de régression.

b = Ordonnée à l'origine, en coulombs.

La quantité théorique de charge est obtenue par l'équation :

$$Q_t = VC_{Cl}F$$

V = Volume de la solution d'HCl, en litre.

C_{Cl} = Concentration réelle, exprimée en moles de Cl^- par litre de solution d'HCl.

F = Constante de Faraday (F = 96487 C/mol).

Le résultat est acceptable si le coefficient de corrélation est supérieur à 0,999.

Pour le travail quotidien, limiter la vérification en une seule injection d'acide chlorhydrique, par exemple 5 µL, qui représente le point de la partie centrale de la zone de travail. La différence entre les valeurs mesurées et théoriques ne doit pas dépasser 10 %.

■ Expression des résultats

La teneur en AOX est exprimée en microgrammes par litre de chlore (Cl^-)

$$\text{AOX en } \mu\text{g/L de } Cl^- = (C_1 - C_0) \times \left(\frac{M \times a}{V \times F}\right)$$

C_1 = Mesure de l'échantillon en coulombs.

C_0 = Mesure du témoin en coulombs.

M = Masse molaire du chlore (35,45 10^6 µg/mol).

a = Pente de la droite donnée par la vérification du microcoulomètre.

V = Volume de l'échantillon en litres.

F = Constante de Faraday = 96 487 C/mol.

Remarques

– La limite de détection est de 7 µg/L.

– Les fluorures ne sont pas dosés par cette méthode.

– Si la teneur en halogènes organiques de l'échantillon est inférieure à 10 µg/L et si le COD est proportionnellement faible, effectuer le dosage sur une prise d'échantillon inférieure à 0,1 L.

– les composés polaires et hydrophiles, faiblement retenus sur charbon actif ou facilement élués par la solution de nitrate de lavage, sont peu ou pas pris en compte par cette méthode. Il s'agit par exemple de composés tels que des acides (acides chloroacétiques par exemple), des alcools. Cependant la prise en compte de la grande majorité des composés organohalogénés est globalement très bonne par cette méthode.

– Les composés les plus volatils peuvent être éliminés lors du protocole d'échantillonnage ou de dosage.

– La méthode est applicable aux échantillons contenant peu de composés particulaires.

– La méthode n'est pas applicable aux échantillons contenant plus de 50 mg/L de chlorures.

– Les interférences entraînant une erreur par excès sont dues :

- à la présence de chlore actif (Cl_2), l'addition de sulfite de sodium élimine cette interférence ;
- aux composés inorganiques de l'iode. Ils conduisent à des résultats non reproductibles ;
- à des concentrations élevées en bromures.

– Des cellules vivantes (micro-organismes, algues) donnent des résultats élevés à cause de leur teneur en chlorures. Dans ce cas, analyser l'échantillon 8 heures après son acidification.

Méthode de référence

NF EN ISO 9562 (mars 2005). Dosage des composés organiques halogénés adsorbables (AOX) (indice de classement T90-151).

9.9 Absorbance UV et absorbance UV spécifique

Préambule

Les molécules organiques présentes dans les eaux naturelles, et en particulier la matière organique naturelle, possèdent des groupements d'atomes capables d'absorber l'énergie de photons dans une gamme du spectre visible ou du spectre UV (groupements chromophores). Bien que chaque type de fonction chimique soit responsable d'une absorption à une

longueur d'onde caractéristique, la matière organique des eaux naturelles, dans sa globalité, absorbe dans l'UV (gamme de 200 à 400 nm) sans présenter de bande d'absorption particulière.

Ce spectre, peu spécifique, ne permet pas de quantifier globalement la matière organique présente, mais de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence l'intérêt de la détermination de l'absorbance UV à 254 nm (UV_{254}). Cette longueur d'onde n'autorise pas l'identification d'une classe de chromophore particulière, mais elle permet de caractériser la présence de systèmes conjugués (noyaux aromatiques en particulier), très abondants dans les structures macromoléculaires qui constituent la matière organique dissoute des eaux naturelles.

Ce caractère aromatique de la matière organique est également mis en exergue par l'utilisation du paramètre absorbance UV spécifique (ou SUVA : specific UV absorbance), qui est le rapport de l'absorbance UV à 254 nm à la teneur en carbone organique dissous (COD) de l'échantillon :

$$SUVA = \frac{UV_{254}}{COD}$$

Les unités de mesure sont les suivantes :

– UV_{254} (absorbance UV à 254 nm) cm^{-1} (ou m^{-1})
– COD mgC/L (mg de carbone par litre)
– SUVA L. cm^{-1}/mgC (ou L. m^{-1}/mgC)

Le paramètre SUVA constitue un bon indicateur du caractère aromatique (ou aromaticité) de la matière organique dissoute présente dans les eaux naturelles.

■ Principe

L'absorbance UV à 254 nm est déterminée sur les échantillons préalablement filtrés.

□ Matériel

– spectrophotomètre permettant les mesures dans l'UV (longueur d'onde 254 nm).

– cuves en quartz d'un trajet optique de 1 à 5 cm, soigneusement nettoyées pour éliminer toute trace de matière organique.

– matériel de filtration (membranes d'une porosité de 0,45 à 1 μm).

■ Mode opératoire

L'échantillon filtré est introduit dans la cuve en quartz de trajet optique L en cm.

Son absorbance UV à 254 nm est déterminée en réglant le zéro du spectrophotomètre sur un blanc d'eau ultra-pure.

L'absorbance UV, exprimée en cm^{-1}, est obtenue en divisant l'absorbance mesurée par le trajet optique L (en cm) de la cuve utilisée.

Une détermination séparée de la teneur en carbone organique dissous permet d'accéder au paramètre SUVA.

Remarques

– les cuves en verre absorbant la plus grande partie de l'UV lointain, il est impératif d'utiliser des cuves en quartz.

– bien que certaines eaux puissent sans problème être analysées sans filtration préalable, la présence de certaines particules en suspension peut perturber la mesure.

– certaines espèces inorganiques absorbent dans l'UV, mais le plus souvent à des longueurs d'onde inférieures à 230 nm. Elles interfèrent donc peu sur la mesure.

9.10 Matière organique naturelle et substances humiques

Préambule

La matière organique est une composante ubiquiste des milieux aquatiques naturels. Elle est constituée d'un vaste ensemble de composés complexes et hétérogènes. Elle trouve son origine dans des phénomènes complexes qui ne sont pas encore totalement définis et peut se scinder en matière organique d'origine autochtone (générée dans le milieu aquatique par l'activité phytoplanctonique et microbienne) et en matière organique d'origine allochtone (ou terrestre, provenant du lessivage des sols et de la percolation des eaux dans les sols). Il est habituel de qualifier comme naturelle la matière organique des eaux naturelles naturelle (c'est la MON ou matière organique naturelle), bien que certains micropolluants présents dans ces milieux aquatiques soient d'origine anthropique (rejets urbains ou industriels ou activité agricole).

La matière organique naturelle représente au moins 90 % de la charge en matières organiques des eaux naturelles et elle constitue un constituant d'intérêt majeur lors de la production d'eau potable, car elle interfère avec de nombreux procédés de traitement. Elle constitue en particulier le réservoir principal de précurseurs de sous-produits de désinfection (chloration, ozonation), et s'avère par ailleurs largement impliquée dans les problèmes de colmatage des membranes.

La MON serait constituée pour l'essentiel par des structures macromoléculaires de type polymérique à caractère acide, bien que certaines recherches récentes considèrent qu'il pourrait s'agir de structures supramoléculaires, constituées de molécules de faibles masses moléculaires, associées entre elles par des liaisons de faible énergie. Mais on y trouve également des petits acides organiques, des acides aminés (sous forme d'acides aminés libres, de polypeptides ou de protéines), des sucres (sous forme de polysacharides), des amino-sucres… Ces composés peuvent être identifiés et quantifiés par des techniques chromatographiques, mais on considère généralement que seul le quart de cette matière organique peut être identifié par cette voie. Les méthodes développées pour l'analyse des acides aminés et des sucres présents dans les eaux sous des formes combinées (polypeptides, protéines, polysaccharides,

composés associés aux substances humiques) sont résumées dans ce paragraphe.

Mais la MON est le plus souvent appréhendée globalement par la mesure de la teneur en carbone organique total ou dissous (COT ou COD) des eaux, paramètre qui englobe toutes les matières organiques, quelles que soient leurs origines. Dans les eaux naturelles, la teneur en COD varie généralement entre 1 et 20 mg/L, avec des teneurs influencées par le climat, la nature du sol et de la végétation, les saisons et le régime hydraulique des masses d'eau.

Pour caractériser cette matière organique, de nombreux protocoles ont été développés. Ils font appel à des méthodes de concentration, d'extraction et de fractionnement, et associent parfois ces procédés. Ils peuvent mettre en œuvre une simple concentration par lyophilisation ou évaporation, une adsorption sur des résines macroporeuses non ioniques ou sur des résines échangeuses d'ions, ou encore une filtration sur des membranes d'osmose inverse, de nanofiltration ou d'ultrafiltration.

Nous développerons dans ce paragraphe la méthode d'extraction la plus usitée, qui permet d'extraire et de fractionner la matière organique grâce aux propriétés de sorption des résines macroporeuses non ioniques XAD-8 et XAD-4. Cette méthode permet d'atteindre un rendement global d'extraction de la MON voisin de 90 %.

Pour caractériser ces extraits de matière organique, différents outils sont ensuite utilisables, la spectrométrie UV, l'analyse élémentaire, la fluorescence, la spectrométrie infra rouge, ou encore la résonance magnétique nucléaire (RMN ^{13}C). La pyrolyse CG/SM, permet quant à elle de caractériser les structures organiques présentes dans un échantillon d'eau (composés polyhydroxyaromatiques, protéines, polysaccharides, amino-sucres) sans fractionnement préalable.

9.10.1 Fractionnement de la matière organique des eaux par filtration sur résines XAD

■ Principe

Le protocole présenté a été développé par Malcolm et McCarthy (1992) pour fractionner la matière organique des eaux par filtration successive sur les résines XAD-8 et XAD-4. Il se pratique sur un échantillon filtré et correspond donc à la matière organique dissoute (MOD). Le fractionnement est basé sur la polarité de la matière organique (caractère hydrophile/hydrophobe) et sur son caractère acido-basique. L'échantillon est acidifié à pH 2 avant le fractionnement.

La fraction de MOD adsorbée sur résine XAD-8 est dite fraction hydrophobe (HPO). Elle correspond aux substances humiques et se divise en 2 entités :

– les acides humiques (AH) qui précipitent en milieu acide (pH = 1),

– les acides fulviques (AF) solubles à pH acide et représentant la fraction majoritaire.

La fraction de MOD non retenue sur résine XAD-8 et non retenue sur résine XAD-4 est appelée fraction hydrophile (HPI).

Quant à la fraction de MOD non retenue sur résine XAD-8, mais retenue sur résine XAD-4, elle possède un caractère polaire intermédiaire et est qualifiée de fraction transphilique (TPH).

Chaque fraction est caractérisée par sa teneur en carbone organique dissous (COD).

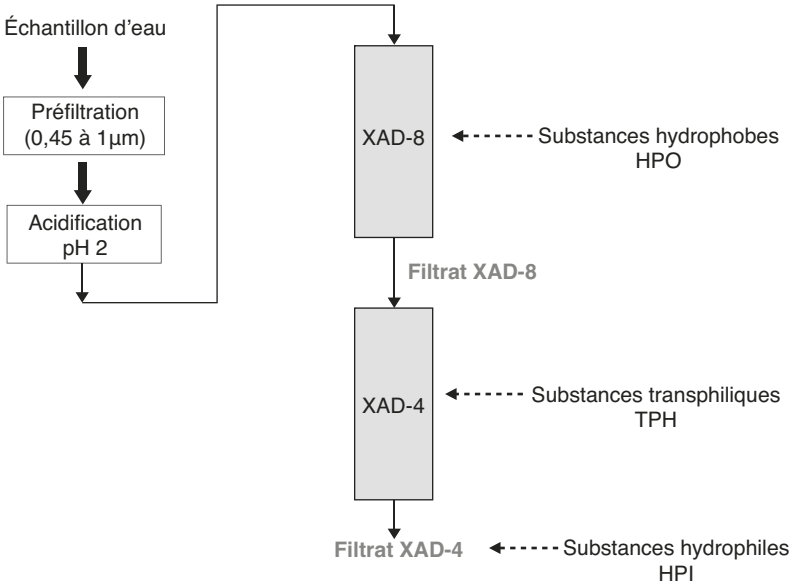
☐ **Matériel**

– système de filtration équipé de membranes de porosité 0,45 ou 1 μm.

– colonnes en verre munies à leur base d'un disque fritté en fibre de verre pour retenir les résines XAD et permettre la percolation de l'eau.

Des colonnes d'un diamètre d'environ 1 cm et d'une hauteur d'environ 20 cm peuvent être utilisées. Elles permettent d'utiliser un faible volume de résine (environ 7 mL) et ne nécessitent qu'un faible volume d'échantillon (200 mL).

Le schéma suivant présente le schéma de montage et résume le protocole opératoire :



■ Mode opératoire

– Purification des résines XAD.

Les résines XAD introduites dans les colonnes de verre sont préalablement rincées à l'eau ultra-pure pour les débarrasser des monomères de constitution résiduels.

Une série de rinçages successifs (eau ultra-pure, hydroxyde de sodium 0,1 N, eau ultra-pure, acide chlorhydrique 0,1 N, eau ultra-pure) termine ce nettoyage des résines. La détermination de la teneur en COD des eaux de rinçage permet de contrôler l'efficacité de la procédure, la teneur en COD des eaux de rinçage devant être très voisine de celle de l'eau ultra-pure utilisée (<0,15 mg/L).

– Fractionnement des eaux.

Les eaux sont filtrées puis acidifiées à pH 2 à l'aide d'acide chlorhydrique. On les fait ensuite percoler sur les colonnes de résines disposées en série. Le débit de percolation est d'environ 1 goutte par seconde et le volume conseillé est de 200 ml pour des volumes de résines identiques et égaux à 7 mL.

La teneur en COD est mesurée en entrée des colonnes (eaux acidifiées filtrées) et en sortie des colonnes XAD-8 et XAD-4.

■ Expression des résultats

Les proportions relatives des 3 fractions de MOD se calculent comme suit :

$$\text{Substances hydrophobes HPO (\%)} = \frac{COD_{initial} - COD_{filtrat\ XAD\text{-}8}}{COD_{initial}} \times 100$$

$$\text{Substances transphiliques TPI (\%)} = \frac{COD_{filtrat\ XAD\text{-}8} - COD_{filtrat\ XAD\text{-}4}}{COD_{initial}} \times 100$$

$$\text{Substances hydrophiles HPI (\%)} = \frac{COD_{filtrat\ XAD\text{-}4}}{COD_{initial}} \times 100$$

Remarques

– dans les eaux naturelles, la fraction hydrophobe, qui correspond aux substances humiques, est généralement la fraction majoritaire et elle représente plus de 50 % du COD des eaux.

– les fractions adsorbées sur résines XAD peuvent être éluées par une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N. On obtiendra ainsi les fractions hydrophobes acides (HPOA) par élution de la résine XAD-8 et transphilique acide (TPHA) par élution de la résine XAD-4,

– les fractions de MOD non éluées par la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N peuvent être à leur tour extraites par un mélange acétonitrile/eau (75 %/25 %). Ceci permet d'isoler les fractions neutres (hydrophobes neutres HPON et transphiliques neutres TPHN) et basiques (hydrophobes HPOB et transphiliques TPHB).

– la quantification des teneurs en matière organique des fractions peut aussi être réalisée par la détermination de l'absorbance UV à 254 nm, ou par le paramètre SUVA (absorbance UV relative) (cf. § A-9.9), pour évaluer l'aromaticité des fractions.

9.10.2 Analyse chromatographique de classes de composés organiques : acides aminés et sucres

Quelques classes de composés organiques présents dans les eaux naturelles en quantités significatives ont fait l'objet de développements analytiques. C'est le cas du dosage des acides aminés et de celui des sucres. Ces méthodes font appel à des procédures de séparation par chromatographie et elles sont précédées d'étapes d'hydrolyse permettant l'analyse globale des formes libres et combinées.

Ces procédures n'ont pas encore fait l'objet de développements en tant que méthodes de routine et restent encore peu utilisées, car elles sont longues et complexes et, s'appliquant à l'analyse de traces de composés,

elles nécessitent la mise en œuvre des protocoles analytiques extrêmement rigoureux. Elles n'en demeurent pas moins intéressantes pour caractériser la matière organique des eaux. Nous n'en présenterons que le principe général. Elles se pratiquent sur des échantillons filtrés (porosité 0,45 μm).

Dosage des acides aminés totaux

Un traitement acide (HCl 6 N) à 120 °C pendant 3 heures hydrolyse les formes combinées (polypeptides, protéines, composés associés aux substances humiques) en formes libres.

Après dérivation à l'orthophtaldialdéhyde (OPA), les acides aminés sont séparés par chromatographie liquide haute performance (colonne C18, polarité de phase inversée). Les acides aminés séparés sont détectés par fluorimétrie avec une grande sensibilité (longueur d'onde d'excitation de 335 nm et d'émission de 425 nm). La colonne permet la séparation de 16 acides aminés (acides aspartique et glutamique, glycine, sérine, histidine, arginine, thréonine, alanine, tyrosine, méthionine, valine, phénylalanine, isoleucine, leucine, ornithine, lysine), avec une limite de détection comprise entre 5 et 10 nmol/l pour chaque acide aminé.

Les résultats s'expriment soit :

– par la concentration individuelle de chaque acide aminé, en nmol/L, en ng/L ou par la teneur en carbone organique de chaque composé présent (μg/L C),

– par la concentration globale en acides aminés, exprimée par la somme des teneurs en carbone organique des 16 acides aminés quantifiés (μg/L C).

Dosage des sucres totaux

Une hydrolyse acide (H_2SO_4 1 N) pendant 4 heures à 100 °C permet de transformer les polysaccharides en sucres libres.

Les sucres sont séparés par chromatographie liquide sur une colonne échangeuse d'anions puis détectés par ampérométrie pulsée. La cellule contient une électrode de travail en or et une électrode de référence Ag/AgCl. La méthode permet le dosage de 12 sucres (rhamnose, arabinose, galactose, glucose, mannose, xylose, fucose, désoxyribose, désoxygalactose, fructose, ribose, sucrose), avec une limite de détection de 5 à 10 nmol/L pour l'ensemble des sucres, sauf pour le ribose, le fructose et le sucrose où elle est de 20 à 30 nmol/L).

Les résultats s'expriment soit :

– par la concentration individuelle de sucre, en nmol/L, en ng/L ou par la teneur en carbone organique de chaque composé présent (μg/L C),

– par la concentration globale sucres, exprimée par la somme des teneurs en carbone organique des 12 sucres quantifiés (μg/L C).

10 • MICROPOLLUANTS ORGANIQUES

Préambule

Le nombre de substances chimiques enregistrées au CAS (*Chemical Abstract Services*) augmente sans cesse, dépassant 36 millions en juillet 2008. Dans ce contexte la Commission Européenne a instauré un système dénommé REACH (*Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals*) permettant l'identification et l'élimination progressive des produits chimiques les plus toxiques en vue de la protection de la santé humaine et de l'environnement, dont les eaux naturelles et notamment celle destinées à la production d'eau potable.

La découverte de la présence de composés organiques dans les eaux progresse toujours, notamment pour ceux d'origine anthropique (industrie, agriculture, eaux usées urbaines, transports, hôpitaux, etc.). Les micropolluants chimiques (« micro » car à l'état de traces dans les eaux) comprennent deux grands groupes, minéraux et organiques, auxquels il faut ajouter le groupe des organométalliques.

Pour les micropolluants organiques (thème de ce paragraphe), plusieurs classements peuvent être envisagés :

– par les groupes chimiques liés à leur structure (phénols, phtalates, hydrocarbures polyaromatiques, etc.) ;

– par leur domaine d'application et, par suite, par l'origine de leur présence dans l'environnement (pesticides, détergents, résidus pharmaceutiques, etc.) ;

– par leur toxicité et/ou absence de biodégradabilité ;

– par leur classement en listes prioritaires, bien que ces listes évoluent significativement depuis quelques années (§ G.2.2).

Ce paragraphe du chapitre « Eaux naturelles » utilise un classement par ordre alphabétique, en accord avec les habitudes des laboratoires d'analyse, mélangeant les classes de micropolluants organiques par groupes fonctionnels et celles par domaine d'utilisation ou d'origine. Comme pour le paragraphe A.7 (Cations et Anions), un paragraphe introductif (A-10.1) est dédié aux techniques de préparation et aux techniques chromatographiques.

Pour les lecteurs inexpérimentés, il est fortement conseillé de lire ce paragraphe introductif, notamment pour ce qui concerne la préparation de l'échantillon avant analyse chromatographique.

10.1 Méthodes instrumentales pour l'analyse des micropolluants organiques

Ce paragraphe sur les méthodes expérimentales décrit la préparation et le traitement de l'échantillon (préparation, extraction, dérivation, purification, séchage, etc.), les différentes méthodes « on line », ainsi que quelques notions de chromatographie.

Le lecteur inexpérimenté en techniques analytiques y trouvera un nombre important de conseils, méthodes, données pour l'interprétation, très utiles pour la suite de ses investigations. La spectrométrie de masse n'y est toutefois pas abordée.

10.1.1 Préparation et traitement de l'échantillon

Le traitement de l'échantillon est souvent l'étape la plus longue et l'une des principales sources de dispersion et d'erreurs d'un protocole d'analyse de traces. Cependant, cette étape est indispensable afin d'atteindre les niveaux de performances requis pour l'analyse de la plupart des micropolluants organiques dans les eaux.

Le traitement de l'échantillon peut comporter une ou plusieurs étapes parmi :

– la préparation de l'échantillon,
– la dérivation avant extraction,
– l'extraction, la purification, le séchage
– la dérivation,
– la concentration.

Les étapes de dérivation et de purification peuvent être placées dans un ordre différent selon les applications.

Les étapes d'extraction et de concentration peuvent être réalisées indépendamment de l'analyse chromatographique (en différé ou off- line) ou être couplées directement à l'analyse (en ligne ou on- line).

En général, le traitement de l'échantillon ne doit comporter que les étapes nécessaires au niveau de performances analytiques envisagées afin de ne pas allonger inutilement le protocole analytique mais surtout de limiter les pertes en substances d'intérêt et la contamination de l'échantillon. Les différentes opérations de traitement de l'échantillon doivent répondre aux critères de performance usuels, notamment la reproductibilité et la répétabilité, mais elles doivent également être quantitatives pour les dérivations et conduire à des rendements acceptables pour les étapes d'extraction. L'ajout d'étalon interne au cours d'une des étapes peut permettre un suivi des performances du traitement de l'échantillon.

■ Préparation de l'échantillon au prélèvement

La préparation de l'échantillon, telle qu'envisagée dans cet ouvrage, est une étape simple qui peut en partie être réalisée sur le terrain lors du prélèvement (cf. § A-1.1). Elle peut consister en un ajustement du pH, une neutralisation du chlore libre dans les eaux de distribution traitée ou une éventuelle filtration.

Ajustement du pH

En fonction du pH conduisant au meilleur rendement d'extraction, il peut être judicieux d'ajuster le pH de l'échantillon directement sur site, par des acides ou des bases usuels telles que l'acide chlorhydrique ou la soude. Cet ajustement a pour principal objectif d'améliorer la conservation de l'échantillon. Ainsi, il est recommandé d'ajuster le pH entre 6 et 9 dans le cas de pesticides organophosphorés tels que le malathion et le parathion (cf. A-10.24.2) ou de l'ajuster à 2 pour la détermination de l'indice hydrocarbures (cf. A-10.18). Des ajustements de pH successifs sont également recommandés dans le cas d'une dureté de l'eau trop élevée. Par exemple, si la concentration en carbonate de calcium excède 3 mmol/L, il est recommandé pour l'analyse du glyphosate d'abaisser le pH entre 1 et 3 selon l'acide employé avant de neutraliser l'échantillon avec de la soude (cf. A-10.24.6). Si un échantillon contient des acides humiques en grande quantité (coloration jaune d'une eau superficielle par exemple), son acidification peut entraîner la précipitation des acides humiques.

Neutralisation des halogènes libres

La neutralisation des halogènes libres, majoritairement le chlore, d'un échantillon d'eau traité permet de limiter la dégradation d'espèces sensibles comme par exemple le glyphosate (cf. § A-10.24.6) ou les HAP (cf. § A-10.16), sensibles au chlore, ou d'empêcher d'éventuelles réactions avec la matière organique, ce qui conduirait à une surestimation de paramètres tels les hydrocarbures halogénés hautement volatils. Cette neutralisation peut être réalisée par ajout de thiosulfate de sodium en excès sous forme de solution ou de sel ou de sulfite de sodium.

Ajout de sels

L'ajout de sel (carbonate de potassium ou chlorure de sodium), au moment du prélèvement peut déplacer favorablement certains équilibres notamment de la phase liquide vers la phase gazeuse en modifiant la force ionique de l'échantillon. Par exemple, la limite de quantification du chlorure de vinyle est améliorée par ajout de chlorure de sodium (cf. § A-10.10).

Filtration des MES

La filtration des matières en suspension peut être nécessaire pour des échantillons particulièrement chargés afin de ne pas entraîner de perturbation mécanique des systèmes analytiques (obturation des frittés ou bouchages des tubes des montages chromatographiques de faible diamètre). Cette filtration est généralement réalisée sur filtre de verre de porosité variable (de 1 μm à 40 μm). La qualité du filtre doit être compatible avec l'analyse : il doit être suffisamment propre pour ne pas introduire d'interférences. Il est important de noter que la filtration peut entraîner une sous-estimation des concentrations ; elle doit donc être signalée dans le rapport analytique. En effet, des micropolluants comme les HAP sont fortement adsorbés sur certaines particules et une fraction non négligeable des mycrocystines est contenue dans les cellules restées sur le filtre de faible porosité. Il est alors conseillé d'extraire les micropolluants adsorbés sur le filtre.

La dérivation

La dérivation est un processus réactionnel qui peut faciliter l'élution chromatographique et/ou améliorer la sensibilité. Elle n'est nécessaire que pour certaines applications.

Analyse par chromatographie gazeuse

Pour une analyse par chromatographie en phase gazeuse, une réaction de dérivation peut conduire à un produit de plus haut ou de plus bas point d'ébullition ce qui présente un intérêt respectivement pour les composés à bas ou à haut point d'ébullition. Il existe trois réactions principales : l'alkylation, la silylation, et l'acylation.

L'alkylation consiste à remplacer un atome d'hydrogène actif par un groupement aliphatique ou aromatique. En général, les produits d'alkylation sont moins polaires que les produits initiaux. L'application la plus courante de cette technique est la transformation d'acides en esters correspondants. Par exemple, les herbicides phénoxyacétiques (cf. § A-10.24.5) et les nitrophénols (cf. § A-10.25.5) subissent une réaction de méthylation avec du diazométhane avant analyse par GC. Les nonylphénols et alkylphénols sont dérivés par du BSTFA (,*O*-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide) (cf. § A-10.25.6).

La silylation consiste à remplacer un atome d'hydrogène par un groupe alkyl-silyl tel le trimethylsilyl (TMS) ou le t-butylmethylsilyl (t-BDMCS). De nombreuses fonctions réagissent avec ces réactifs : acides, alcools, thiols, amines, amides, cétones, aldéhydes. Les dérivés obtenus sont plus volatils, moins polaires et thermiquement plus stables que les composés initiaux.

L'acylation consiste à produire esters, thioesters ou amides par réaction d'un acide, d'un chlorure ou anhydride d'acide sur les hydrogènes actifs de la molécule d'intérêt. Pour la détection, l'acylation avec un groupe perfluoroalkyl est un moyen d'améliorer la sensibilité de la détection.

D'autres réactions de dérivation sont également employées dans le domaine de l'analyse de l'eau : les chlorophénols réagissent avec l'anhydride acétique pour former les acétates correspondants avant analyse GC (cf. § A-10.25.3).

Analyse par chromatographie liquide

Pour une analyse en phase liquide, la réaction de dérivation peut conduire à un composé de moindre polarité et donc mieux retenu dans le cas d'une séparation de type partage inverse. Elle peut en outre introduire dans le produit de la réaction un groupement fonctionnel améliorant la sensibilité de la détection. Par exemple, le glyphosate et son métabolite l'AMPA (acide aminométhylphosphorique), ou encore l'amitrole (ou aminotriazole), sont de petites molécules, très polaires donc non retenues en HPLC de partage inverse et ne possédant pas de groupement chromophore. La réaction de ces molécules avec le FMOC (9-Fluorenylmethyl chloroformate), réactif fluorophore, abaisse leur polarité et permet une détection par fluorimétrie (cf. § A-10.24.6 et 24.7).

Dérivation post-colonne

Dans la plupart des cas, la dérivation est réalisée avant l'analyse chromatographique. Il existe cependant des exemples de réactions post-colonne. Dans ce cas, seule la sensibilité de la détection est modifiée. La réaction des ions iodures sur les bromates permet leur détection par spectrométrie UV et augmente la sensibilité d'un facteur 5 par rapport à la conductimétrie. L'analyse du glyphosate peut également être réalisée par deux réactions en aval de la colonne en chromatographique ionique : le glyphosate est oxydé en glycine, amine primaire, qui réagit alors avec l'aldéhyde orthophthalique et avec un dérivé du 2-thioéthanol pour donner un dérivé fluorescent de l'indole (cf. § A-10.24.6).

Exemples de dérivation pré-colonne

Type de dérivation	Utilisation	Reactif	Référence normative	Paragraphe
Alkylation	Certains herbicides phénoxyalcanoïques, y compris bentazones et hydroxybenzonitriles	Diazométhane	NF EN ISO 15913	A-10.24.5
	Nitrophénols sélectionnés	Diazométhane	NF EN ISO 17495	A-10.25.5
	Dalapon, acide trichloroacétique et acides haloacétiques sélectionnés	Diazométhane	NF EN ISO 23631	A-10.5
	Composés organostanniques sélectionnés	borate tétraéthyle de sodium	NF EN ISO 17353	A-10.22
	Nonyl-phénols octylphénols	BSTFA (o-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide)		A-10.25.6
Silylation	Acides, alcools, thiols, amines, amides, cétones, aldéhydes	trimethylsilyl (TMS) ou le t-butylmethyl-silyl (t-BDMCS)		
Acylation	Certains chlorophénols	Anhydride acétique	NF EN 12673	A-10.25.3
	Six agents complexants	Chlorure d'acétyle	NF EN ISO 16588	A-10.11.2
Divers	Glyphosate, AMPA (acide amino-méthylphosphorique), amitrole	FMOC (9-Fluorenyl-methyl chloroformate	PR NF ISO 21458	A-10.24.6

Extraction liquide/liquide « off line » (*Liquid-liquid Extraction*, LLE)

L'extraction liquide/liquide est une méthode de séparation permettant l'isolement d'une ou de plusieurs substances présentes dans une solution, dans notre cas l'échantillon aqueux, par transfert sélectif dans une autre solution non miscible à la première, dans notre cas un solvant non miscible à l'eau. C'est une des techniques de traitement de l'échantillon les plus anciennes et les plus simples, qui permet des séparations faciles souvent obtenues en un nombre d'équilibres restreint à l'aide d'un matériel aussi usuel qu'une ampoule à décanter.

L'extraction liquide/liquide par simple équilibre se décompose en trois étapes :

– L'échantillon à analyser est mis en contact avec la solution d'extraction.

– Les deux solutions sont mises à l'équilibre par agitation après décantation.

– Les deux phases sont séparées et la solution d'intérêt est conservée pour poursuivre le processus analytique.

Différents paramètres doivent être ajustés lors de ces trois étapes.

Nature et volume de la solution d'extraction

La nature et le volume de la solution d'extraction sont les paramètres majeurs. Ils doivent être déterminés de façon à ce que les micropolluants organiques d'intérêt aient plus d'affinité pour la solution d'extraction que pour la matrice de l'échantillon. La solution d'extraction peut être constituée d'un solvant ou d'un mélange de plusieurs solvants, peu ou non miscibles à l'eau et d'une densité la plus différente possible de celle de l'eau afin de faciliter la décantation. Ils doivent être peu toxiques, si possible facilement recyclables mais surtout relativement volatils afin de faciliter l'étape de concentration sans entraîner de pertes. Les solvants les plus utilisés pour les échantillons aqueux sont des alcanes de faibles poids moléculaires (pentane ou hexane) et le dichlorométhane. L'emploi des solvants les plus toxiques (benzène, chloroforme ou tétrachlorure de carbone) a été fortement limité voir interdit ces dernières années. Le volume de solvant d'extraction doit être suffisant pour extraire la plus grande quantité de soluté mais ne doit pas être trop élevé afin de ne pas allonger l'étape de concentration. Les volumes des solutions d'extraction varient de 20 à 50 mL pour un échantillon de 1 L.

Ajustement du pH

L'ajustement du pH de la solution d'échantillon peut déplacer l'équilibre de partage des micropolluants organiques d'intérêt vers la phase organique ou vers la phase aqueuse et donc influer sur la qualité de l'extraction. Par exemple, l'extraction des alkylphénols est réalisée à pH 2 (cf. § A-10.25.6) et celle de certains pesticides organo-phosophorés à un pH compris entre 3,5 et 4,5 (cf. § A-10.24.2).

Mélange

Les dispositifs de mélanges pour une extraction par simple équilibre sont des plus simples. L'extraction peut être réalisée dans le récipient d'échantillonnage, si le volume de l'échantillon est contrôlé et si le volume disponible

dans le récipient est suffisant. Elle peut également être réalisée dans une ampoule à décanter de volume adéquat. Dans le premier cas, l'agitation est généralement magnétique et dans le second, elle est mécanique. Les paramètres gouvernant la vitesse de l'agitation (vitesse de rotation du barreau aimanté ou fréquence de basculement de l'ampoule) doivent être ajustés de façon à ce que les deux solutions non miscibles soient intimement mélangées mais sans former d'émulsion stable par une dispersion trop fine.

La cinétique d'extraction étant très variable suivant les conditions opératoires, il est nécessaire de déterminer la durée minimale d'agitation en mesurant les rendements d'extraction pour des temps d'agitation croissants. Très souvent, l'équilibre d'extraction est atteint en quelques minutes mais il peut atteindre quelques heures. Par exemple, le temps d'extraction conseillé pour des pesticides organochlorés est de 10 minutes (cf. § A-10.24.1) ; il est de 4 heures pour l'extraction des alkylphénols (cf. § A-10.25.6).

Séparation des phases

Lorsque l'agitation est arrêtée, les deux phases sont transférées dans une ampoule à décanter si l'extraction a été réalisée dans le récipient d'échantillonnage. Ce dernier doit alors être rincé avec la solution d'extraction. La décantation des deux phases dure généralement quelques minutes mais elle peut être beaucoup plus longue si une émulsion a été formée lors de l'agitation (agitation trop rapide ou présence de tensio-actifs dans l'échantillon). Dans ce cas, plusieurs solutions peuvent être envisagées : ajouter une solution concentrée de sel minéral (du sulfate de sodium ou de magnésium par exemple) ou centrifuger l'émulsion. Le solvant d'extraction enrichi en solutés est recueilli. La séparation des deux phases peut également être réalisée par un microséparateur bien que cet appareillage est de moins en moins utilisé aujourd'hui.

Extractions multiples

Des extractions multiples peuvent être mises en œuvre, lorsqu'une simple extraction (un équilibre) ne permet pas d'isoler les espèces à séparer. Le nombre d'extractions et donc d'équilibres peut être multiplié afin d'aboutir à une opération globalement quantitative. La matrice de l'échantillon appauvrie en soluté après une première extraction peut être ré-extraite par une solution d'extraction neuve, généralement de même nature que la première. Si les deux solutions d'extractions ne sont pas de même nature, il convient de vérifier leur miscibilité afin d'obtenir un extrait global mono-phasique. Des extractions multiples peuvent être réalisées de façon à recueillir dans chaque fraction des micropolluants organiques de propriétés physico-chimiques différentes ; dans ce cas les conditions de pH de l'échantillon et les solvants d'extraction seront ajustés à chaque extraction.

Dispositifs d'extraction

D'autres dispositifs d'extraction liquide-liquide existent. Pour les extractions en mode discontinus, qui est le mode décrit ci dessus, les dispositifs à mélangeur et à colonnes pulsées sont de moins en moins employés (*). Quant aux extractions en mode continu, les dispositifs par passage du

(*) Le lecteur souhaitant plus de précisions sur ces techniques pourra se reporter aux suppléments en ligne (www.dunod.com).

solvant organique à travers la solution aqueuse ou à contre-courant, sont surtout utilisés pour l'extraction de grandes quantités de substances. Ces dispositifs sont donc peu utilisés dans les laboratoires pour les analyses de micropolluants organiques.

Conclusion

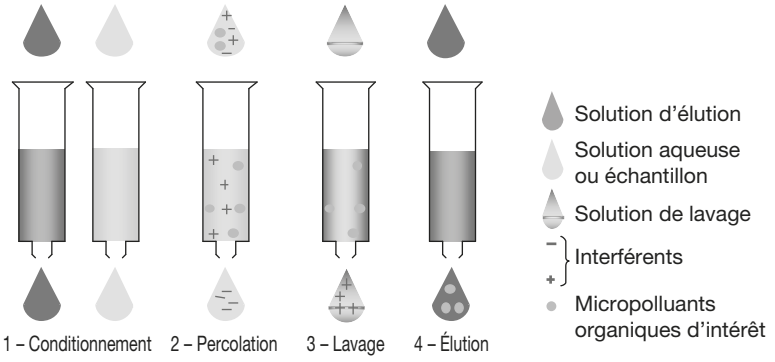
En conclusion, l'extraction liquide-liquide, telle que pratiquée dans les laboratoires d'analyse de l'eau, est une technique simple, généralement rapide et efficace pour les composés peu à moyennement polaires. Cependant, elle est peu sélective car les micropolluants organiques de propriétés physico-chimiques proches seront extraits dans des proportions similaires. De plus, l'extraction liquide-liquide doit souvent être complétée par une étape de purification qui sera décrite plus loin.

La pureté des solvants employés est un point critique. Des blancs de solvants et des blancs d'extraction dans lesquels le solvant et ses impuretés sont alors concentrés doivent être réalisés à chaque changement de lot de solvant. Ces essais permettent de déterminer l'impact éventuel des impuretés concentrées sur la qualité de l'analyse.

■ Extraction sur phase solide «off line» (*Solid Phase Extraction*, SPE)

L'extraction sur phase solide a été développée comme méthode alternative à l'extraction liquide-liquide. La première SPE a été réalisée au début des années 70 pour l'identification et la quantification de polluants organiques neutres d'eaux réelles sur une résine polymérique poreuse. Cette technique est devenue depuis lors la méthode de choix pour l'analyse de composés de polarité variable et à l'état de traces. Elle est fondée sur la distribution des solutés entre une phase solide, l'adsorbant, et une phase liquide (l'échantillon ou la solution solvant d'extraction). Cette technique repose sur un processus chromatographique dans lequel l'adsorbant est la phase stationnaire, l'échantillon ou la solution d'extraction constituent la phase mobile.

Idéalement, dans un premier temps, les micropolluants d'intérêt sont retenus sur la phase stationnaire alors que les interférents et la matrice de l'échantillon sont éliminés. Dans un second temps, les micropolluants d'intérêt sont élués de l'adsorbant avec un faible volume de solution d'extraction de forte force éluante. Une procédure d'extraction sur phase solide se déroule en quatre étapes, comme illustré sur la figure suivante :



Principe de l'extraction sur phase solide

Conditionnement du support

La première étape est le conditionnement du support d'extraction, l'adsorbant, contenu dans la cartouche, immobilisé entre deux frittés. Cette étape permet d'activer et de mouiller le support en solvatant les groupements fonctionnels présents à la surface de l'adsorbant. Plusieurs solutions d'élutions peuvent être percolées successivement. Dans le cas de l'analyse d'échantillons d'eau, un support hydrophobe est tout d'abord mouillé par un solvant organique, puis éventuellement par un solvant organique miscible à l'eau et enfin par de l'eau ultra-pure. De manière générale, le dernier solvant percolé dans l'étape de conditionnement doit être miscible avec la matrice de l'échantillon.

Percolation de l'échantillon

Lors de la seconde étape, l'échantillon est percolé sur le support. Les interférents présents dans l'échantillon mais n'ayant aucune affinité pour le support ne sont pas retenus et sont donc éliminés. En revanche, les micropolluants organiques d'intérêt et éventuellement quelques molécules présentant une forte affinité pour le support sont fixées sur l'adsorbant.

Lavage

La troisième étape, le lavage, est une étape facultative qui permet d'éliminer les interférents faiblement retenus par le support. Cette étape peut être suivie du séchage de la cartouche par un jet d'air ou d'azote afin d'éliminer l'eau résiduelle.

Élution

Enfin, la dernière étape consiste en l'élution des composés d'intérêt en percolant un solvant spécifiquement choisi pour rompre les interactions mises en jeu entre les analytes cibles et le support solide en évitant, dans la mesure du possible, d'éluer les interférents fortement retenus sur le support.

Conduites des étapes

Ces différentes étapes peuvent être conduites manuellement, en poussant les différentes solutions avec une seringue sur la cartouche. La percolation peut alors être accélérée en plaçant l'extrémité de la cartouche dans un bac en dépression. Cependant, pour une plus grande reproductibilité et pour augmenter le nombre d'échantillons traités par unité de temps, divers dispositifs automatiques de SPE sont disponibles dans le commerce. Ils permettent de réaliser plusieurs extractions en série et/ou en parallèle avec plusieurs protocoles différents et des fractions collectées par échantillon pouvant être multiples.

Principaux paramètres à ajuster

Les principaux paramètres à ajuster sont par ordre d'importance décroissant la nature de l'adsorbant, la nature des solutions d'élution et de lavage, puis les volumes de phases ainsi que les volumes de solutions.

Choix du support

La nature de l'adsorbant, c'est-à-dire le choix d'un support SPE est une étape clef dans l'élaboration du procédé d'extraction, ce choix est évidem-

ment orienté suivant le type de matrice à analyser et la nature des analytes à extraire. Une très grande diversité de phases est disponible auprès de nombreux fournisseurs. La connaissance des mécanismes de rétention des composés sur ces supports permet d'optimiser plus facilement l'extraction. Par conséquent, les adsorbants peuvent être classés en fonction de la nature et des intensités des interactions qu'ils développent avec l'analyte.

Les supports polaires

La silice vierge, l'alumine, le silicate de magnésium et les silices greffées par des fonctions diols, nitriles ou amines primaires, sont les principaux supports polaires proposés en SPE ; le mécanisme repose sur l'adsorption ou le partage en phase normale. Ces supports sont particulièrement indiqués pour l'extraction des solutés organiques hydrophobes qui sont peu retenus et donc facilement éliminés. Quant aux solutés de polarité moyenne à forte, ils sont fortement retenus sur ces supports mais peuvent être élués avec un solvant plus polaire que le support.

Les supports apolaires à base de silice greffée

Un support à base de silice peut être greffé avec une chaîne alkyle de longueur variable, généralement avec 8 ou 18 atomes de carbones. Ces supports présentent une faible sélectivité car la plupart des analytes apolaires ou peu polaires interagissent par liaisons hydrophobes ou interactions de Van der Waals avec ces adsorbants. À taille de chaîne alkyle équivalente, les supports à base de silice greffée diffèrent par l'accessibilité et le taux des groupements silanols résiduels, qui sont dépendants du protocole de greffage. Or, les silanols résiduels génèrent des interactions secondaires avec les composés polaires ce qui apporte une sélectivité propre à chaque adsorbant. Des efforts notables ont été réalisés ces dernières années pour augmenter la surface spécifique de ce type de support, qui reste compétitif du fait de son coût réduit.

Les supports polymériques

Ces supports sont principalement des copolymères apolaires de polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB). Ils développent les mêmes interactions hydrophobes que dans le cas des silices greffées octadécyle sans induire d'interactions secondaires avec les composés polaires. Les noyaux aromatiques du copolymère peuvent induire des interactions de type donneur-accepteur d'électrons π avec des solutés. Ces supports sont stables sur toute la gamme de pH (0-14) contrairement aux supports de silice (pH 2-8) et présentent de hautes surfaces spécifiques. Le support Oasis HLB (*Hydrophilic Lipophilic Balance*, Waters) est l'un des supports de dernière génération les plus utilisés car il permet l'extraction d'une large gamme de composés en termes de polarité. Le motif du réseau polymérique est composé d'un monomère hydrophobe permettant la rétention des composés par interactions hydrophobes, et d'un monomère hydrophile. Il assure une meilleure mouillabilité lors du conditionnement et de la percolation de l'échantillon aqueux par rapport aux supports de PS-DVB. Il crée également des interactions polaires supplémentaires pouvant augmenter la rétention des composés les plus hydrophiles. D'autres supports que OASIS HLB, de type polymérique, présentent des résultats similaires bien que les

motifs soient différents ; citons par exemple les supports Plexa de Varian et Chromabond Easy de chez Machery Nagel.

Les supports PGC

Lorsque la rétention d'analytes polaires est insuffisante sur les supports polymériques, le carbone graphité poreux (PGC) peut être une solution. Les composés apolaires mais aussi très polaires peuvent être extraits d'un échantillon d'eau avec un meilleur rendement que sur la silice greffée C_{18} ou les polymères de polystyrène-divinylbenzène (PS-DVD). Les mécanismes de rétention font intervenir des interactions de type π-π et d'autres types d'interactions mal définies et peu connues. La difficulté majeure avec ce support provient de la très forte rétention de certains solutés allant jusqu'à l'irréversibilité, ce qui entraîne une baisse du rendement d'extraction.

Les échangeurs d'ions

Pour les composés ionisables, des interactions de nature ionique peuvent être mises en jeu en ajustant le pH de la solution. Le mécanisme de rétention est alors fondé sur l'échange d'ions. Les supports d'extraction, échangeurs de cations ou échangeurs d'anions identiques à ceux employés en chromatographie d'échange d'ions, sont des silices ou des résines polymériques greffées par des groupements acides (acides carboxyliques ou sulfoniques) ou basiques (amines). Les micropolluants d'intérêt, sous forme ionique, sont retenus par des interactions électrostatiques ; sous forme moléculaire, après ajustement du pH, ces mêmes micropolluants sont élués. Si ce pH d'élution ne peut être atteint, l'élution des espèces cibles est réalisée avec une solution de grande force ionique. Ces supports sont rarement mis en œuvre seuls pour l'analyse de traces dans des échantillons complexes, ces derniers ayant généralement une teneur en ions inorganiques trop forte par rapport à la capacité de l'échangeur. Cependant, les supports à mécanismes mixtes qui associent une silice greffée octadécyle ou un support polymérique à un échangeur d'ions peuvent être une alternative intéressante.

Les supports sélectifs

Les supports décrits ci-dessus sont destinés à des extractions de familles plus ou moins larges de molécules. Cependant, le protocole analytique peut ne viser qu'un nombre restreint de molécules. Dans ce cas, il peut être intéressant de se tourner vers les supports sélectifs au lieu de multiplier les extractions et/ou purifications, sources de pertes. Les principaux supports sélectifs sont les supports à base d'immunoadsorbant et des polymères à empreinte moléculaire. Avec les immunoadsorbants, la rétention est basée sur un mécanisme de reconnaissance de l'anticorps vis-à-vis de l'antigène, ici l'analyte. Avec les polymères à empreinte moléculaire, la rétention est fondée sur les principes de reconnaissance moléculaire similaires à ceux mis en jeu dans les systèmes biologiques mais en assurant à ces supports une meilleure stabilité à moindre coût. Cependant, ces techniques sont actuellement limitées par la faible capacité des supports, et leur disponibilité commerciale.

Volume ou masse de phase solide

Le volume (ou la masse) de phase est un autre paramètre important. Les cartouches d'extraction sont disponibles en un nombre de format limité ; ces formats sont essentiellement déterminés par la masse d'adsorbant contenu dans la cartouche. Généralement, la masse d'un adsorbant de surface spécifique usuelle, adsorbant de type silice greffé C18, varie de 500 mg à 1 g ; celle d'un adsorbant de haute surface spécifique, de type polymérique, varie de 60 mg à 200 mg. On retrouve également la mention des volumes, respectivement 3 ou 6 ml. Durant l'étape de conditionnement, les volumes conseillés pour les solvants sont équivalents à cinq fois le volume de la cartouche. Dans la phase d'élution, le volume doit être ajusté par des essais successifs afin d'être suffisant pour l'élution de la majorité des micropolluants d'intérêt mais sans excès, ce qui pourrait entraîner des pertes lors de la concentration.

Volume d'échantillon à percoler

Le volume d'échantillon à percoler est généralement de 200 à 500 ml pour les cartouches de 3 ml et peut aller jusqu'au litre pour les cartouches de 6 ml. Pour les échantillons les plus chargés, il convient de limiter le volume d'échantillon de façon à ne pas dépasser la capacité maximale de la cartouche au-delà de laquelle les solutés d'intérêt ne sont plus retenus, faute de sites accessibles et disponibles. En outre, percoler un volume trop important peut, contrairement au résultat attendu, être délétère : au-delà d'un certain volume, appelée volume de fuite, les micropolluants ne sont plus retenus mais ils sont élués du support du fait de l'entraînement dynamique que l'on retrouve dans les processus chromatographiques.

Les débits de percolation lors de la phase d'élution des analytes cibles doivent être limités afin de laisser le temps aux équilibres de s'établir. Lors de cette dernière phase, la percolation d'un faible volume suivie d'une pause de quelques minutes avant de reprendre l'élution peut améliorer les rendements.

Une attention particulière sera portée sur la qualité des lots de cartouches : en effet, les rendements d'extraction peuvent varier notablement d'un lot de cartouches à un autre. Dès lors, les rendements doivent être contrôlés et les lots tracés.

Nature des solutions d'élution

La nature des solutions d'élution et de lavage dépend du type de support sélectionné et des micropolluants d'intérêt. Elle peut être ajustée à partie des protocoles standards conseillés par le fournisseur de la cartouche. Généralement, les solutions d'élution sont des solutions composées d'un solvant ou de plusieurs solvants de polarité variable : méthanol, acétone, acétonitrile, acétate d'éthyle, hexane et dichlorométhane. Il faut cependant veiller à la compatibilité des solvants c'est-à-dire à la miscibilité des phases entre deux étapes, si elles ne sont pas séparées par une étape de séchage de la cartouche sous air ou sous azote. La phase de lavage est un mélange d'eau et d'un faible pourcentage de solvant organique : la force éluante de ce mélange doit être relativement faible afin d'éluer les interférents tout en gardant fixés les solutés cibles. Dans le cas de supports échangeurs d'ions ou mixte, la détermination du ou des pH des différentes solutions est cruciale pour une bonne qualité d'extraction. Seuls des essais avec pour

échantillons des solutions synthétiques, de concentration en analyte cible connue, permettent d'ajuster la nature des différentes solutions d'élution et de lavage. Notons qu'il peut être envisagé de réaliser plusieurs élutions avec des solvants de force croissante, ce qui permet de recueillir dans chaque fraction des micropolluants de propriétés physico-chimiques différentes. Les fractions recueillies peuvent être rassemblées ou analysées individuellement. Comme dans le cas de l'extraction liquide-liquide, les solvants doivent être de qualité suffisante pour qu'une fois concentrés, ils n'engendrent pas de perturbation lors de l'analyse.

Conclusion

En conclusion, l'extraction sur phase solide permet l'extraction d'une gamme de micropolluants organiques cibles plus larges que l'extraction liquide-liquide, notamment vers les plus polaires. Cependant, le nombre de paramètres à ajuster, (nature et masse d'adsorbant, nature et volumes des solvants d'élution et de lavage) est plus important que dans le cas de l'extraction liquide-liquide. La mise au point est donc plus longue du fait des différents équilibres dynamiques mis en jeu ; elle peut prendre pour base les recommandations des fournisseurs de cartouches SPE ainsi que celle des normes.

Principaux supports pour extraction sur phase solide (et purification)

Type de support		Stabilité (pH)	Application	Référence Normative	Paragraphe
Supports polaires	Silice vierge Silices greffées par des fonctions diols, nitriles ou amines primaires	2-8	Solutés organiques hydrophobes		
	Florisil (Silicate de magnésium)	2-8	Purification : Indice hydrocarbure	NF EN ISO 9377-2	A-10.18
	Alumine	2-8	Purification : HAP	NF T90-115	A-10.16
	Alumine	2-8	Purification : pesticides organochlorés, PCB et chlorobenzes	NF EN ISO 6468	A-10.24.1
	Silice vierge	2-8	Purification : Alkylphénols	NF EN ISO 18857-1	A-10.25.6
	Silice vierge	2-8	Purification : HAP	NF EN ISO 17993	A-10.16
Supports apolaire à base de silice greffée	Silice greffée avec une chaîne alkyle de 18 atomes de carbone	2-8	Certains herbicides phénoxyalcanoïques, y compris bentazones et hydroxybenzonitriles	NF EN ISO 15913	A-10.24.5
	Silice greffée avec une chaîne alkyle de 18 atomes de carbone	2-8	Certains composés organiques azotés et phosphorés sélectionnés	NF EN ISO 10695	A-10.24.2 A-10.24.3 A-10.24.4
	Silice greffée avec une chaîne alkyle de 18 atomes de carbone	2-8	Certains agents de traitement des plantes -Triazines et urées	NF EN ISO 11369	A-10.24.3 A-10.24.4
	Silice greffée avec une chaîne alkyle de 18 atomes de carbone	2-8	Microcystines	ISO 20179	A-10.19
	Silice greffée avec une chaîne alkyle de 18 atomes de carbone	2-8	Certains phtalates (DOP, DEHP)	NF EN ISO 18856	A-10.26

Type de support		Stabilité (pH)	Application	Référence Normative	Paragraphe
Supports polymériques	Silice greffée avec une chaîne alkyle de 18 atomes de carbone	2-8	Nitrophénols sélectionnés	NF EN ISO 17495	A-10.25.5
Supports polymériques	Polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB)	0-14	Certains explosifs et de composés apparentés notamment les nitrotoluènes, les nitro-amines et les nitro-esters, ainsi que de composés apparentés	NF EN ISO 22478	
Supports polymériques	Polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB)	0-14	Epichlorhydrine	NF EN 14207	A-10.14
	Copolymère de styrène-divinyl-benzène hydroxylé	0-14	Nitrophénols sélectionnés	NF EN ISO 17495	A-10.25.5
	Copolymère de *N*-vinylpyrrolidone-divinyl-benzène	0-14	Nitrophénols sélectionnés	NF EN ISO 17495	A-10.25.5
Carbone graphité poreux (PGC)	Composés apolaires mais aussi très polaires	0-14			
échangeurs d'ions	Silices ou résines polymériques greffées par des groupements acides (carboxyliques ou sulfoniques) ou basiques (amines)	Selon support	Micropolluants d'intérêt, sous forme ionique		

■ Purification de l'extrait (ou de l'éluat)

Une étape de purification après extraction (généralement extraction liquide-liquide), peut être nécessaire lorsque les extraits recueillis sont trop complexes, s'ils proviennent par exemple d'échantillons d'eaux résiduaires ou d'eaux superficielles polluées. Cette étape revient à réaliser une extraction sur phase solide avec un support adapté : l'échantillon alors percolé est l'extrait recueilli précédemment. L'objectif est d'éliminer la majorité des interférents qui risquent d'entraîner une forte dégradation de la qualité du résultat analytique.

La plupart des adsorbants dédiés à la purification d'extraits complexes sont des adsorbants polaires tels que ceux décrit plus haut ; les micropolluants d'intérêt sont élués du support avec un solvant d'extraction apolaire et les interférents sont retenus sur l'adsorbant. Les gels de silice ou du florisil, constitué de silicate de magnésium, sont conseillés dans le cadre de la détermination de l'indice hydrocarbure. Les supports à base d'alumine sont utilisés pour l'analyse de HAP mais également de pesticides organochlorés, PCB et chlorobenzènes (cf. § A-10.9 ou § A-10-27). Dans ce dernier cas, un support à base d'alumine et de nitrate d'argent peut également être employé.

L'étape de purification peut être réalisée sur des cartouches disponibles dans le commerce ou sur une colonne garnie au laboratoire par l'adsorbant

sélectionné, purifié et placé entre deux couches de laine de verre. Comme dans le cas de la SPE classique, le support doit être conditionné mais pour recevoir une phase organique, l'extrait à purifier et non une phase aqueuse : le dernier solvant de l'étape de conditionnement est le solvant de l'extrait à purifier. Après percolation de l'extrait à purifier, ce même solvant est employé pour le rinçage de la colonne. Dans le cas où les micropolluants d'intérêt sont relativement polaires, la force éluante du solvant peut ne pas être suffisante pour les éluer du support ; il convient alors d'utiliser un mélange de solvant en veillant à ce que la force éluante ne soit pas trop forte et n'entraîne pas trop d'interférents. Par exemple, la purification d'échantillons sur gel de silice en vue de l'analyse de pesticides organochlorés, PCB et chlorobenzène requiert trois solutions d'élution de natures différentes et de polarité croissante : le solvant d'extraction employé pour la LLE, un mélange de ce solvant avec du toluène et enfin un mélange de ce solvant avec de l'éther diéthylique (cf. § A-10.9, 24.1 et 27).

Enfin, mentionnons le cas du soufre, qui peut interférer dans certaines analyses. Il peut être éliminé de l'extrait par ajout de cuivre pyrogénique. Le cuivre ainsi préparé est ajouté directement dans l'extrait à purifier avant sonication et centrifugation. L'extrait est prélevé et le cuivre rincé avec le solvant d'extraction, qui est mélangé à la première fraction recueillie.

Autres techniques d'extraction

D'autres techniques d'extraction, automatiques, sont plus rarement mises en œuvre pour les échantillons aqueux, il s'agit de l'extraction par solvant avec chauffage sous pression (*Assisted Solvent Extraction*, ASE), l'extraction par solvant assistée par micro-ondes (*Microwave Assisted Solvent Extraction*, MASE) et l'extraction par fluides supercritiques (*Supercritical Fluid Extraction*, SFE).

L'extraction avec chauffage sous pression (ASE) consiste à porter le solvant d'extraction à une température nettement supérieure à celle utilisée avec les techniques conventionnelles, tout en augmentant la pression afin de maintenir le solvant d'extraction dans son état liquide. Dès lors, la cinétique de l'extraction étant améliorée, le temps d'extraction est plus faible ; la diffusion étant plus efficace, le volume de solvant requis est plus limité. Du fait des hautes pressions pouvant aller jusqu'à 100 bars, l'ASE est réalisée dans des cellules résistantes aux pressions. Le ou les extraits sont collectés dans des flacons distincts. Les solvants employés en ASE sont similaires à ceux utilisés pour les techniques conventionnelles. La pression, la température, le temps de contact et les volumes sont les principaux paramètres à ajuster. La température pouvant atteindre plusieurs centaines de degrés, cette technique n'est pas adaptée aux composés thermolabiles.

L'extraction par solvant assistée par micro-ondes (MASE), consiste à augmenter la température de l'extraction via les micro-ondes. Contrairement aux techniques de chauffage usuelles, les micro-ondes chauffent l'échantillon ainsi que le solvant d'extraction dans leur ensemble ; ils atteignent alors plus rapidement la température voulue ce qui induit un gain de temps indéniable par rapport aux techniques conventionnelles. Une des conditions nécessaires pour l'emploi de cette technique est que le solvant ou la matrice de l'échantillon absorbe les micro-ondes, ce qui est le cas avec les échantillons aqueux.

L'extraction par fluides supercritiques (SFE) est proche de l'extraction ASE. Les contraintes de pression sont plus importantes alors que les températures peuvent être plus modérées ; cette technique est donc compatible avec l'extraction de composés thermolabiles. Cette technique repose sur les propriétés des fluides supercritiques, intermédiaires et continues, entre celles des liquides et des gaz correspondants. La masse volumique d'un fluide supercritique est voisine de celle d'un liquide mais avec une plus faible viscosité ce qui lui confère un bon pouvoir solvant avec une meilleure efficacité ; le coefficient de diffusion, qui régit le transfert de masse du soluté entre les deux phases est environ 10 fois plus grand, ce qui accorde au fluide supercritique des avantages cinétiques indéniables. Les principaux paramètres qui régissent la SFE sont la pression et la température de l'extraction mais surtout la nature du fluide, généralement du dioxyde de carbone, auquel peut être adjoint de faibles pourcentages de solvant polaire appelé modificateur. Le point critique de la SFE est la collecte des fractions extraites après décompression du fluide.

Séchage

Le séchage de l'extrait est une opération importante qui vise à débarrasser l'extrait de l'eau résiduelle afin de concentrer l'extrait organique dans les meilleures conditions. Deux techniques de séchage sont principalement employées : le séchage par ajout de sulfate de sodium anhydre ou par congélation.

Le séchage par ajout de sulfate de sodium anhydre consiste à ajouter quelques grammes de sulfate de sodium anhydre directement dans l'extrait. Après mélange, l'extrait débarrassé de l'eau résiduelle est recueilli. Le sulfate de sodium est rincé avec le solvant d'extraction et cette seconde fraction est ajoutée à la première de façon à ne pas entraîner de pertes de substances d'intérêt. Dans le cas où une étape de purification est nécessaire, le sulfate de sodium anhydre peut être placé en tête de la colonne de purification ; ainsi purification et séchage sont menés conjointement.

Le séchage par congélation consiste à placer l'extrait quelques heures dans un congélateur à – 18 °C : l'eau résiduelle se trouve alors sous forme solide et le solvant d'extraction dans lequel sont dissous les micropolluants d'intérêts sous forme liquide. Ici encore, la glace formée est rincée avec du solvant d'extraction afin de limiter les éventuelles pertes en composés cibles.

Évaporation et reprise

L'étape d'évaporation, ou de concentration, et de reprise finalise le processus d'extraction. Pour les grands volumes de solvant, les dispositifs automatiques procèdent à l'évaporation du solvant à température modérée et sous vide léger, ce qui permet d'abaisser sa température d'ébullition. Trois dispositifs commerciaux peuvent être cités : Rotavap, Kuderna-Danish et Turbo-Vap. Ce dernier permet l'évaporation simultanée de plusieurs échantillons sous un vortex de gaz ; un détecteur optique indique la fin du processus. Pour les plus faibles volumes, l'évaporation du solvant est réalisée sous flux d'air ou d'azote modéré, généralement à pression ambiante. Dans les deux cas, il convient de maîtriser la cinétique d'évaporation (température de l'échantillon et débit de gaz et/ou pression) de façon à ne pas engendrer des

pertes de solutés volatils, ce qui abaisserait le rendement et donc les performances du processus d'extraction dans son ensemble. L'évaporation peut être poussée jusqu'à quelques centaines de microlitres, à la micro goutte ou à sec selon les applications avant d'ajuster et de contrôler le volume final de l'extrait. Le solvant d'ajustement doit être miscible avec le solvant d'extraction et compatible avec la technique chromatographique qui suivra. S'il est nécessaire de procéder à un changement de solvant entraînant une miscibilité partielle, l'ajout d'un tiers solvant peut être envisagé. Une attention particulière sera apportée à la qualité des gaz de façon à ce qu'ils ne soient pas une source de contamination de l'échantillon.

Facteur d'enrichissement et rendement

Le volume final de l'échantillon détermine le facteur d'enrichissement global de la méthode extraction : c'est le rapport entre le volume d'échantillon initial et le volume d'extrait final. Ce rapport est généralement de 1 000. Il est conseillé d'abaisser le facteur d'enrichissement pour les échantillons chargés de type eaux résiduaires ou eaux de surface polluées. Avec un facteur d'enrichissement supérieur à 1000, la sensibilité de la méthode peut être améliorée mais les conséquences d'impuretés, provenant de l'échantillon ou des solvants, seront amplifiées.

Le rendement d'un processus de traitement de l'échantillon est déterminé sur des échantillons synthétiques à l'aide de la droite de calibration. Il est propre à chaque molécule et dépend de la matrice choisie : eau ultra-pure, eau minéralisée, ou eau de surface. En première approche, un rendement peut être déterminé sur un seul niveau de dopage : le rendement correspond au rapport de la concentration finale dans l'extrait, multiplié par le facteur d'enrichissement, divisé par la concentration initiale dans l'échantillon.

Cependant, un rendement moyen peut être calculé sur l'ensemble du domaine de travail : il correspond, au facteur de concentration près, au coefficient directeur de la droite de recouvrement tracée avec au moins 10 essais répartis sur l'ensemble du domaine, par exemple 5 niveaux et au moins deux répétitions.

Un rendement est généralement considéré comme acceptable s'il est compris entre 80 % et 120 %. Pour certaines applications, comme dans le cas du dosage de certains pesticides organophosphorés, les rendements sont considérés comme acceptables à partir de 60 %. ; ils ne doivent pas dépasser 110 % dans le cas de la détermination de l'indice hydrocarbures.

Des rendements supérieurs à 120 % peuvent être dus à des erreurs de manipulation ou à des effets de matrice, notamment pour les analyses de type LC/MS^2.

Techniques en ligne avec la chromatographie (on line)

L'extraction des micropolluants organiques d'intérêt peut également être réalisée en ligne avec l'analyse chromatographique en phase gazeuse ou en phase liquide. Par rapport aux techniques en différé, les techniques en ligne, majoritairement automatiques, nécessitent moins d'échantillon et moins de solvant. Elles sont plus reproductibles et limitent les sources de perte et/ou de contamination car elles ne nécessitent pas de transfert de

verrerie et n'incluent pas d'étape d'évaporation. De plus, elles sont souvent plus rapides.

Les techniques de préparation de l'échantillon, en ligne, en phase gazeuse, sont adaptées pour l'étude de micropolluants organiques relativement volatils. Elles reposent sur l'équilibre qui s'établi, dans un récipient de collecte fermé, entre la phase liquide, l'échantillon, et la phase gazeuse. Elles sont directement couplées avec la chromatographie en phase gazeuse, ne nécessitent pas de solvant. La préparation de l'échantillon est souvent limitée à son simple prélèvement dans un flaconnage adapté.

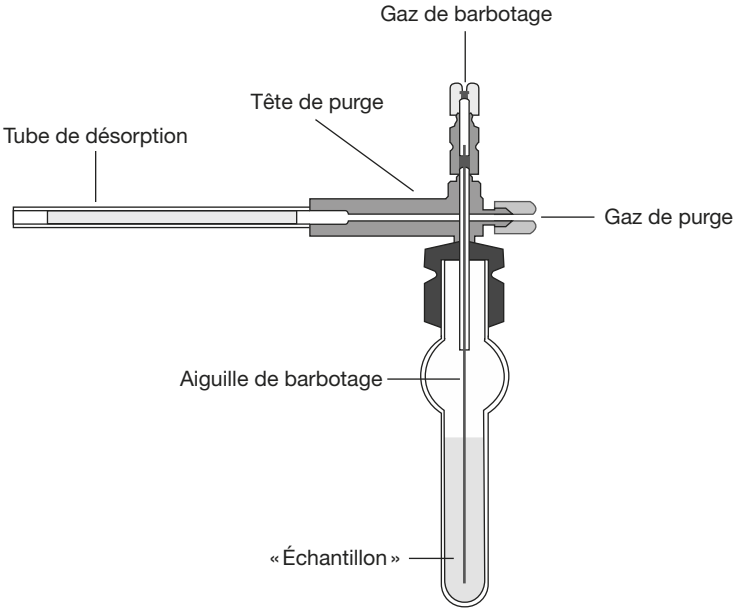
Espace de tête statique (Head Space)

L'espace de tête statique (*Head Space*, HS) a été largement utilisé pour les composés organiques hautement volatils. Un volume d'échantillon connu et maîtrisé est prélevé dans un flacon serti en laissant un espace libre ; l'échantillon est laissé à une température contrôlée sur le passeur d'échantillon pendant un temps suffisamment long pour que s'établisse l'équilibre entre les phases liquide et gazeuse. Cet équilibre permet d'éliminer les micropolluants de haut poids moléculaire et non volatils, ce qui limite la contamination du système chromatographique. Un volume faible et défini de la phase gazeuse est directement injecté dans le chromatographe : la loi de Henry permet de relier la concentration dans la phase gazeuse analysée à la concentration initiale dans l'échantillon. La technique HS statique est probablement la technique d'échantillonnage sans solvant la plus simple et la plus fréquemment employée. Les seuls paramètres à ajuster sont le temps minimal de mise à l'équilibre ainsi que la température du passeur. L'équilibre entre les phases liquide et gazeuse peut être déplacé vers la phase gazeuse en élevant la température ou en augmentant la force ionique de la phase liquide par ajout de sel dans l'échantillon. Cette technique souffre cependant d'une faible sensibilité car elle n'inclut pas d'étape de concentration. Elle ne conduit pas à une extraction totale, sauf dans le cas des composés extrêmement volatils, et nécessite donc une étape de calibration particulièrement soignée.

Méthode par dégazage-piégeage (Purge & Trap)

Découlant l'espace de tête statique, la méthode par dégazage-piégeage (*Purge and Trap*, PT) est la technique d'espace de tête dynamique la plus commune. Elle est réalisée en trois étapes. Dans une première étape un gaz extractant, généralement le gaz vecteur, bulle dans l'échantillon aqueux et transfert les composés organiques volatils de la matrice vers le gaz vecteur. Contrairement au cas de l'espace de tête statique, il est nécessaire que le flacon de prélèvement soit rempli à ras bord. La seconde étape est la collecte quantitative de ces composés par un piège à froid, utilisant dioxyde de carbone ou azote liquide, ou sur un adsorbant placé sur le flux de gaz vecteur. Enfin la troisième étape est la désorption des substances à analyser qui doit être aussi rapide que possible de façon à garantir un transfert efficace du piège jusqu'à la colonne analytique. Les paramètres à ajuster sont les mêmes que dans le cas de l'espace de tête statique auxquels il faut ajouter le débit de gaz vecteur, et la température de désorption, susceptible de dégrader les composés thermolabiles. Cette technique est utilisée pour l'analyse des composés moins volatils que dans

le cas de l'espace de tête statique, comme par exemple les hydrocarbures mono-aromatiques, du naphtalène et de certains composés chlorés.



Extraction sur phase solide en ligne

L'extraction sur phase solide (en ligne) peut être couplée à la chromatographie en phase liquide, comme illustré par la figure ci-dessous. La SPE en ligne nécessite d'ajouter à une chaîne de LC classique une vanne 6 voies, idéalement pilotée, ainsi qu'une pompe de pré-concentration.

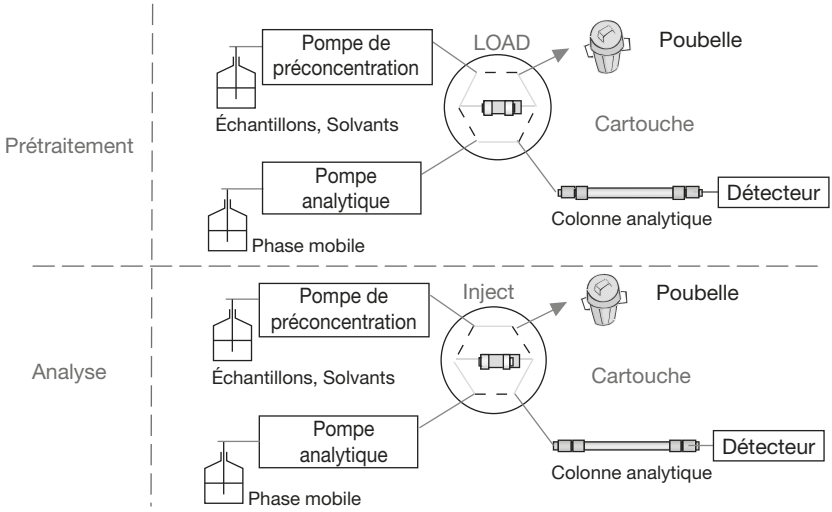


Schéma de la SPE en ligne couplée à la chromatographie liquide

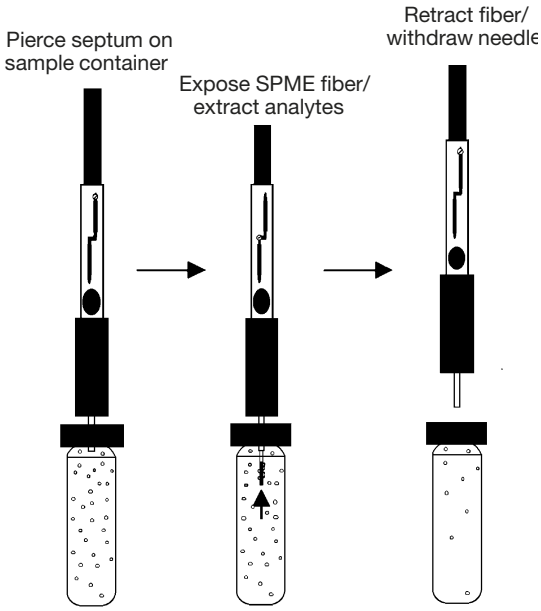
Le principe reste le même que dans le cas de la SPE off line. La phase d'extraction, contenue dans une cartouche de quelques dizaines de millimètre de diamètre et de longueur est conditionnée par les mêmes solvants que dans le cas de la SPE off line à l'aide de la pompe de pré-concentration ; leurs volumes sont cependant ajustés proportionnellement au volume d'adsorbant. Quelques millilitres à quelques dizaines de millilitres d'échantillon sont percolés sur la cartouche qui peut ensuite être lavée, toujours via la pompe de préconcentration. Une fois ces étapes achevées, l'élution est assurée par la phase mobile de la séparation chromatographique. La vanne 6 voies est commutée : la phase mobile traverse la cartouche où elle désorbe les composés, avant d'atteindre la colonne qui permet leur séparation. La vanne 6 voies peu être commutée une seconde fois, après la désorption des composés cibles, afin de ne pas entraîner les interférents les plus retenus en tête de colonne chromatographique.

Les principaux paramètres à ajuster sont identiques à ceux de la SPE en différé : principalement la nature de l'adsorbant et des solvants de conditionnement et de lavage. Les volumes de liquides, solvants et échantillons, sont modifiés en tenant compte du faible volume d'adsorbant contenu dans la cartouche. Le temps de mise ne ligne de la cartouche sera également étudié. Dans le cas de la SPE en ligne, une attention particulière sera portée sur le volume d'échantillon percolé afin qu'il n'atteigne pas le volume de fuite.

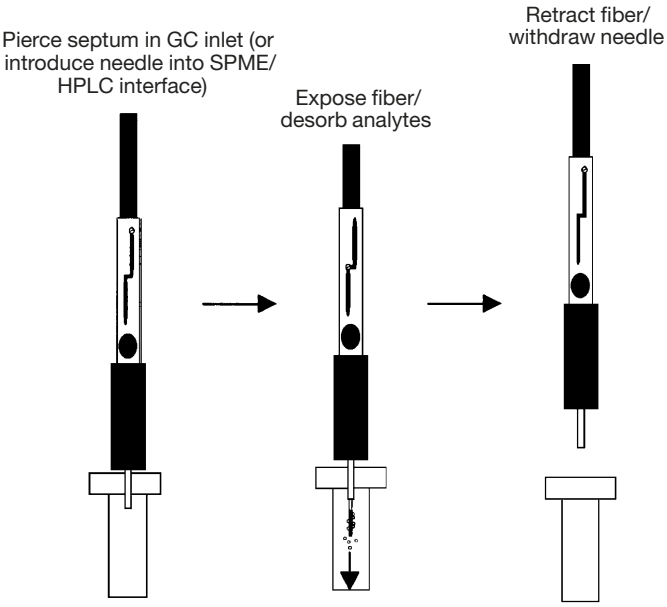
La SPE en ligne peut être réalisée grâce à des robots de type Prospekt ou symbiosis (Spark Holland) ; des cartouches adaptées à ces robots sont disponibles commercialement pour les principaux adsorbants (Silice greffée C18, polymères et phases mixtes). Cette technique est utilisée pour l'analyse de pesticides tels que les triazines et les urées (cf. § A-10.24).

La micro-extraction sur phase solide (SPME) est une miniaturisation automatisée du procédé d'extraction sur phase solide. Cette technique d'extraction sur phase solide s'applique soit dans l'espace de tête soit directement dans l'échantillon. Cette phase solide est un film polymère enrobant une fibre en verre de silice. Cet ensemble est protégé dans une aiguille creuse amovible. Cette méthode n'utilise pas de solvant organique et ne nécessite qu'un très faible volume d'échantillon. Dans certaines conditions, il existe une relation entre la quantité de substance adsorbée sur le revêtement de la fibre et sa concentration dans la matrice. Le couplage de la SPME à des techniques chromatographiques permet l'exploitation quantitative du procédé. Elle se décompose en deux étapes. La première étape est l'étape d'extraction : elle repose sur l'équilibre de partage qui s'établit entre la phase solide, le polymère de la fibre, et la phase représentative de l'échantillon. Cette seconde phase est soit liquide (l'échantillon), soit gazeuse (espace de tête en équilibre avec l'échantillon liquide). L'aiguille amovible a pour rôle de percer le septum du flacon contenant l'échantillon à analyser ; la fibre est alors déployée hors de l'aiguille et plongée, respectivement, directement dans l'échantillon ou au-dessus de l'échantillon. Les solutés se concentrent dans la phase solide polymère. La seconde étape consiste en la désorption. Si la SPME est couplée à la GC, la désorption est de type thermique : les solutés sont rapidement désorbés de la fibre de silice plongée dans un injecteur CPG chauffé. Si la SPME est couplée à la LC, la désorption est réalisée par la phase mobile, la fibre étant placée dans son flux.

Le principal paramètre à ajuster est dans le cas de la SPME la nature de l'adsorbant ; suivent le temps de mise en contact et les paramètres de la désorption. Cette technique est appliquée pour l'analyse des polybromodiphényléther ou des chlorures de vinyle (cf. § A-10.10).



Procédure d'extraction



Procédure de désorption

Étalons internes

L'ajout d'étalons internes au cours d'une des étapes permet le suivi des performances du traitement de l'échantillon, de compenser les erreurs dues à une prise d'essai mal maîtrisée, à l'injection ou aux effets de matrice. Cet ajout peut être réalisé dans l'échantillon de départ pour suivre l'ensemble du processus analytique. Pour les systèmes d'extraction en différé de l'analyse chromatographique, les étalons peuvent être introduits avant une étape clef, par exemple la phase d'évaporation, ou en fin de processus lors de la reprise. Ils ne seront un indicateur de la qualité de la réalisation que des étapes qu'ils subiront. Ces étalons internes doivent être représentatifs des micropolluants organiques analysés : ils doivent présenter des propriétés chimiques similaires afin d'avoir un rendement du même ordre de grandeur ou de réagir de façon semblable lors d'une éventuelle dérivation. Ainsi, il est conseillé de choisir une ou plusieurs molécules de la même famille que les analytes cibles mais non susceptibles d'être présente dans l'échantillon. De plus, les étalons internes ne doivent pas co-éluer avec les composés à analyser. Par exemple, pour l'analyse des chlorophénols, les étalons internes conseillés sont essentiellement des dibromophénols introduits dans l'échantillon (cf. § A-10.25.3) ; dans le cas de l'analyse du glyphosate et de l'AMPA, de l'acide cystéique ou de l'acide 2-aminoéthylphosphorique sont ajoutés avant la réaction de dérivation au FMOC (cf. § A-10.24.6).

Si une détection par spectrométrie de masse est mise en œuvre lors de l'analyse, des étalons internes marqués au carbone 13 ou deutériés seront employés.

Le niveau de concentration de ces étalons doit être proche de celui des molécules cibles, estimé au moment où ils sont introduits.

10.1.2 Chromatographie

La chromatographie est l'outil de base pour cette partie sur l'analyse des micropolluants organiques. Puisque cet ouvrage n'est pas destiné au développement théorique et technologique des méthodes expérimentales (il en existe des très bons dont le lecteur pourra trouver les références en fin de paragraphe), il ne sera présenté ici qu'une description relativement sommaire des techniques de chromatographie, en insistant sur les notions et conseils essentiels, notamment pour l'analyse des micropolluants organiques.

Principe

La chromatographie est un ensemble d'outils qui s'appuie sur le principe de distribution des solutés entre deux phases non miscibles :

– la phase stationnaire, qui par définition est fixe et dont le rôle est de retenir les molécules à séparer ou plus exactement de retarder leur sortie vers un système de détection ;

– la phase mobile ou éluant, qui par définition est en mouvement à un débit contrôlé, et qui a pour objectif de s'opposer aux phénomènes de rétention de la phase stationnaire, c'est-à-dire d'entraîner (ou d'éluer) les molécules à séparer vers un détecteur.

Tout système de chromatographie comporte, *a minima*, une alimentation en phase mobile (gaz sous pression ou liquide pompé), un système d'injection (thermostaté ou non) de l'échantillon à analyser qui est un mélange de composés, un système de séparation des constituants du mélange (colonne de phase stationnaire thermostatée ou non), un système de détection (thermostaté ou non) des composés séparés et enfin un système de traitement du signal (amplification, enregistrement…).

Dénominations et classifications

Plusieurs dénominations, abréviations et classifications sont indiqués dans la littérature spécialisée et dans les notices commerciales.

Selon les états (gaz, liquide, solide) des deux phases, on distingue plusieurs modes (ou techniques) chromatographiques qui sont théoriquement nommées en citant l'état de la phase mobile puis celui de la phase stationnaire :

– la chromatographie gaz-solide (CGS),
– la chromatographie gaz-liquide (CGL),
– la chromatographie liquide-solide (CLS),
– la chromatographie liquide-liquide (CLL).

Selon le type de phases (par exemple pour les phases stationnaires : adsorbant, gel poreux, échangeurs d'ions…), voire leur mise en œuvre (par exemple en colonne ou sur plaques) on peut trouver dans la littérature ou dans les notices commerciales une autre classification des techniques chromatographiques :

– chromatographie d'adsorption (CGS ou CLS),
– chromatographie de partage (CGL ou CLL),
– chromatographie d'échange d'ions (CEI, mais CLS),
– chromatographie d'exclusion stérique (CES, mais CLS),
– chromatographie en phase supercritique (SFC),
– chromatographie planaire (CCM qui est une CLS),
– chromatographie par séparation en continu (particules et autres constituants) par des techniques de séparation gravitaire (sans phase stationnaire, en canaux ou cellules) (FFF).

Remarque

Dans la pratique des laboratoires, on parle couramment soit de « chromatographie gazeuse » (« CG » ou « GC ») quand on pratique la CGS ou la CGL, soit de « chromatographie liquide » (« CLHP » ou « HPLC ») quand on pratique la CLL, voire de « chromatographie ionique » quand on pratique la CEI qui est une forme de CLS.

Pour les applications développées dans cet ouvrage sur l'analyse des eaux, on ne s'intéressera d'une part qu'aux phases stationnaires en colonne traversées par des phases mobiles gazeuse ou liquide, et d'autre part, qu'aux chromatographies d'adsorption et de partition. La chromatographie d'échange d'ions a été présentée § A-7.1.3.

Paramètres de rétention (le chromatogramme)

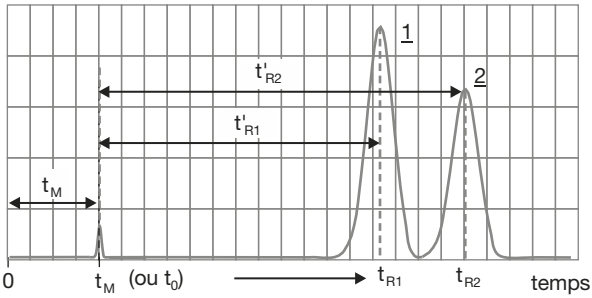
Le chromatogramme est le résultat tracé de la séparation chromatographique mesuré par un détecteur, amplifié puis traité (par enregistreur potentiométrique, par microordinateur…).

L'abscisse de ce tracé correspond généralement au temps et l'ordonnée à l'intensité du signal détecté. On appelle « ligne de base » le tracé obtenu quand aucun composé est élué, qui est donc le signal de la phase mobile au débit, température et réglage de fonctionnement.

Chaque composé élué va donc induire sur ce chromatogramme une modification de la ligne de base traduite (en réponse positive sur l'ordonnée) par un « pic ». Les pics sont théoriquement gaussiens mais il est fréquent qu'ils soient déformés. Cette déformation par rapport aux pics gaussiens est révélatrice d'une variation du temps de rétention avec la quantité de composé injectée. Quand le pic présente une déformation vers l'aval du chromatogramme, qu'on appelle encore « traînée », son abscisse sur le chromatogramme diminue quand la quantité injectée augmente ; cette déformation est révélatrice d'interactions dites secondaires mal contrôlées. Dans le cas inverse de la déformation vers l'amont (« front diffus »), on observe une augmentation de l'abscisse avec la quantité injectée ; cette déformation est liée à une quantité de matière injectée trop importante par rapport à la capacité de la colonne analytique.

L'abscisse est généralement exprimée en temps de rétention (absolu) « t_R », mesuré entre le moment de l'injection et le sommet du pic. Tout composé non retenu est caractérisé par le temps mort « t_m ». Ce dernier correspond au volume mort total du système chromatographique (injecteur, colonne, détecteur, raccordements). On peut définir d'autres paramètres de rétention, comme :

- Le temps de rétention corrigé ou réduit : $t_R = t_R - t_m$
- Le volume (phase mobile) de rétention : $V_R = t_R$ x débit de la phase mobile
- Le volume de rétention corrigé ou réduit : $V'_R = V_R - V_m$
- Le facteur de rétention ou de capacité : $k' = t'_R/t_m = V'_R/V_m$
- L'indice de rétention ou l'indice de Kovats : I_R (en CG, cf. § identification)
- La température d'élution : T_E (en CG, cf. § identification)



ici, on a :

$k'_1 = \frac{t'_{R1}}{t_M}$ $k'_1 = 3{,}08$

$k'_2 = \frac{t'_{R2}}{t_M}$ $k'_2 = 4$

$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}}$ $\alpha = 1{,}3$

Le pic chromatographique gaussien

Efficacité du système chromatographique

Quel que soit le mode de chromatographique, plusieurs grandeurs permettent de définir l'efficacité, que ce soit en termes d'efficacité théorique, de sélectivité ou de résolution.

L'efficacité proprement dite (ou théorique) est basée sur une modélisation qui même ancienne et dépassée au plan théorique, permet de schématiser les phénomènes de séparation, que ce soit par adsorption-désorption (chromatographie d'adsorption) ou d'absorption-désorption (chromatographie de partage). En fait, on peut considérer que le composé à chromatographier se déplace par étapes dans la phase stationnaire. Chacune de ces étapes correspond théoriquement à un équilibre (plutôt un pseudo-équilibre) qui est appelé « plateau théorique ». Plus le nombre de plateaux théoriques est grand, plus le système est efficace. Ce nombre de plateaux théoriques (« N ») et la hauteur équivalente à un plateau théorique (« HEPT » ou « H ») peuvent être mesurés sur chaque pic d'un chromatogramme :

– $N = (t_R/\sigma)^2$ avec σ, demi largeur du pic à 60,6 % de sa hauteur (mesurée en unités de temps) ;

– $N = 16\ (t_R/\omega)^2$ avec ω, largeur de la base du pic (mesurée en unité de temps) ;

– $N = 5{,}54\ (t_R/\delta)^2$ avec δ, largeur du pic à mi-hauteur ;

– H (ou HEPT) = L/N avec L, longueur de la colonne.

Les calculs peuvent être faits avec le temps de rétention réduit t'_R.

Les facteurs influençant l'efficacité (outre le vieillissement de la colonne) sont le débit et la composition de la phase mobile ainsi que la température. Des valeurs optimales de ces deux conditions de fonctionnement correspondent à une valeur minimale de H (d'après l'équation de Van Deemter et autres équations similaires).

Remarque

Il est fortement conseillé de mesurer régulièrement le nombre de plateaux théoriques d'un système chromatographique (ou plus exactement d'une colonne). Les conditions opératoires de chromatographie ainsi que le composé test, doivent être évidemment rigoureusement identiques entre chaque mesure.

La résolution est une grandeur qui permet de déterminer la capacité d'un système à séparer correctement deux constituants d'un mélange, dont les temps de rétention ($t_{R2} > t_{R1}$) sont très proches :

$$R_S = 2(t_{R2}-t_{R1})/(\omega_1 + \omega_2)$$

Remarque

On considère que la résolution est bonne lorsque $R_s \geq 1{,}5$. Des méthodes d'intégration des surfaces des pics permettent toutefois de travailler avec des valeurs de R_s plus faibles (cf. § analyse quantitative).

On peut définir aussi le facteur de séparation ou sélectivité entre 2 solutés :

$$\alpha_{1,2} = t'_{R2}/t'_{R1} = k'_2/k'_1$$

Identification des pics

Il est nécessaire de repérer le pic correspondant au composé à analyser.

Le temps de rétention t_R (ou t'_R) est le plus souvent utilisé comme paramètre d'identification d'un composé élué. Toutefois et comme ce paramètre peut varier légèrement entre deux injections, il est préférable d'utiliser des paramètres relatifs de rétention, en rapportant le paramètre absolu à celui d'un produit connu (ou étalon interne) présent (ou introduit) dans l'échantillon injecté. On utilise alors le facteur de séparation $\alpha_{1,2}$ comme paramètre de rétention. Cette approche est particulièrement précise en chromatographie gazeuse isotherme (sans gradient de température) et en chromatographie liquide isochratique (sans gradient de composition de phase mobile).

L'indice de rétention I_R peut être également utilisé en chromatographie gazeuse, avec les temps de rétention réduits en condition isotherme, ou avec les températures de sortie des pics en gradient de température. Pour calculer la valeur I_R d'un composé donné, en condition isotherme, on injecte un mélange constitué d'une série homologue d'alcanes linéaires. Pour ces alcanes, le tracé de « $\text{Log}_{10}\, t'_R$ *vs* nombre d'atomes de carbone » est une droite dont la pente dépend de la colonne et des conditions opératoires. On injecte ensuite le composé étudié dans les mêmes conditions opératoires (on peut également introduire les alcanes dans l'échantillon à analyser).

L'indice de Kovats du composé est égal à 100 fois le nombre de carbone de l'alcane linéaire ayant le même temps de rétention réduit (t'_{Rc}).

L'indice de rétention I_R du composé est calculé à partir des temps de rétention réduits de ce composé (t'_{Rc}) et des deux alcanes qui l'encadrent sur le chromatogramme (t'_{Rx} et t'_{Ry}) :

$$I_R = [100\,(y - x).(\log t'_{Rc} - \log t'_{Rx})/(\log t'_{Ry} - \log t'_{Rx})] + 100x$$

avec $t'_{Rx} < t'_{Rc} < t'_{Ry}$

x et y nombre d'atomes de carbone des deux alcanes.

En condition de gradient de température la même formule est utilisée, mais en remplaçant les temps de rétention réduits par les températures d'élution.

Les détecteurs spécifiques en chromatographie gazeuse (ECD, NPD, PID de préférence en association) et en chromatographie liquide (barettes de diodes, fluorimètre) peuvent être utilisés pour aider à l'identification des pics (cf. § Chromatographie gazeuse et § Chromatographie liquide). Les couplages avec la spectrométrie (infra-rouge, d'absorption atomique ou de masse) pour les deux modes de chromatographie sont des méthodes idéales d'identification.

Les couplages avec la spectrométrie de masse sont de plus en plus utilisés dans les laboratoires.

Analyse quantitative

Après l'identification des pics, l'objectif final est de quantifier le (ou les) composé(s) recherché(s).

La relation de base à utiliser est celle qui relie la masse injectée (m_c) ou la concentration de l'échantillon injectée (pour un volume injecté connu) à l'aire ou la surface du pic (A_c) :

$$m_c = k_c.A_c$$

L'aire (A_c) du pic chomatographique est aujourd'hui mesurée par un logiciel adapté. On peut également utiliser un intégrateur ou un planimètre, voire les méthodes de triangulation appliquée sur les pics (théoriquement gaussiens) tracés sur papier.

Le coefficient de proportionnalité (k_c) est déterminé par étalonnage dit « externe » qui consiste à chromatographier dans les mêmes conditions des masses croissantes de composé à analyser. C'est généralement une série d'injections de même volume d'échantillons contenant des concentrations croissantes de composé.

L'étalonnage interne consiste à introduire dans l'échantillon et dans les étalons externes une masse connue de composé « étalon interne » ayant une structure voisine du composé à analyser et possédant des valeurs de rétention proches. Cet étalon doit être stable et non réactif avec les constituants de l'échantillon à analyser. Il faut connaître le coefficient de proportionnalité (k_{ei}) de l'étalon interne, ce qui permet d'appliquer la relation suivante :

$$m_c/m_{ei} = (k_c/k_{ei}).(A_c/A_{ei})$$

Remarques

– Comme l'injection manuelle n'est pas suffisamment précise, il est recommandé d'utiliser la procédure d'étalonnage interne.

– L'étalonnage doit être refait tous les jours et chaque fois que l'on change la colonne.

– L'utilisation de deux colonnes de nature différente permet, dans le cas de mélanges inconnus notamment, de confirmer que le pic étudié ne correspond pas à deux produits différents ayant les mêmes paramètres de rétention

Chromatographie gazeuse

La chromatographie gazeuse est l'outil chromatographique le plus utilisé pour l'analyse des micropolluants organiques, grâce notamment à ses colonnes et phases stationnaires très performantes (une colonne capillaire peut comporter 150 000 plateaux). Précédé d'une préparation de l'échantillon, consistant principalement à concentrer les composés à analyser, et couplé à la spectrométrie de masse, il permet en effet d'analyser de très nombreux micropolluants à l'état de traces.

Tout appareil de chromatographie gazeuse comprend dans un bâti unique trois éléments principaux, l'injecteur, la colonne et le détecteur, dans des enceintes chauffées et régulées (à ± 0,2 °C), qui peuvent être portées à des températures élevées. Un gradient de température est généralement prévu pour la colonne (c'est le four à gradient de température programmé), voire pour l'injecteur. Le détecteur est, quant à lui, toujours porté à une

température élevée. L'injecteur est parfois séparé du bâti principal (« head space », « purge and trap », pyrolyseur, etc.).

Le principe consiste à transformer l'échantillon (généralement liquide) sous forme gazeuse en tête de colonne et de la maintenir dans cet état jusqu'à la sortie du détecteur. Un régulateur de débit et de pression permet de contrôler (fixer la valeur et la maintenir constante) de la phase mobile ou gaz vecteur. Ce réglage de la vitesse de la phase mobile permet d'optimiser, avec la température, le nombre de plateaux (équation de Van Deemter), donc l'efficacité et la résolution.

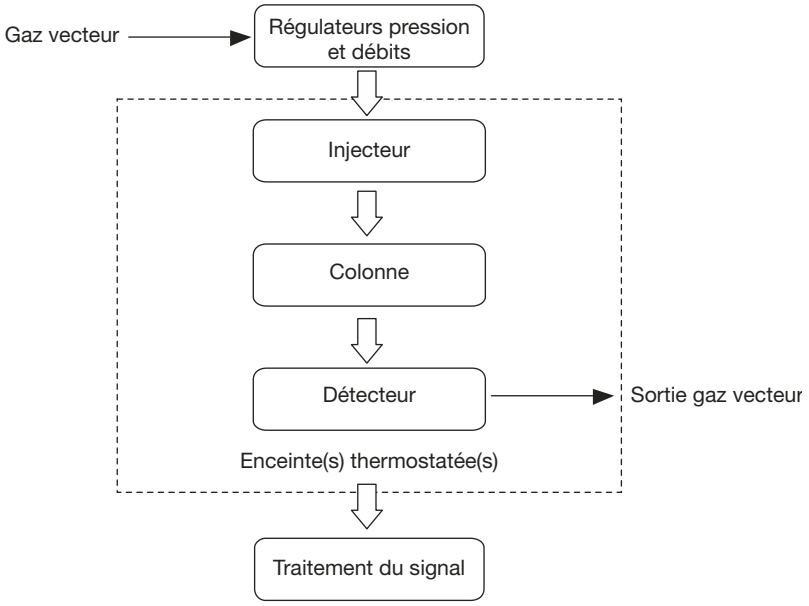


Schéma simplifié des principaux éléments d'une chromatographie gazeuse

Colonnes

La colonne est le cœur du système. Elle contient la phase stationnaire solide ou liquide et elle est portée à une température contrôlée dans un four.

Le tube, contenant la phase stationnaire, doit être bon conducteur de la chaleur, inerte vis-à-vis des composés à chromatographier et imperméable au gaz.

Les colonnes pleines (pour mémoire) de 1/8 ou 1/4 de pouce de diamètre et 1 à 3 m de longueur, sont en tube acier ou verre. Elles contiennent le support de la phase stationnaire, silicates fossiles (de type « Chromosorb » ou « Sphérosil »). Ces silicates comportent des groupes silanols qui permettent de greffer la phase stationnaire (3 à 25 % m/m). La granulométrie du support dépend de la longueur et du diamètre interne du tube (cf. tableau ci-dessous). Elles admettent des débits de 10 à 40 ml/min de phase mobile.

Caractéristiques physiques des colonnes pleines en CG

Longueur de colonne (en m)	Diamètre de la colonne (en pouce)	Granulométrie du support (en meshes)	Diamètre des particules (en mm)
< 6	1/8	100 – 120	0,150 – 0,125
> 6	1/8	80 – 100	0,175 – 0,150
< 6	1/4	80 – 100	0,175 – 0,150
> 6	1/4	60 – 80	0,250 – 0,175

Les colonnes capillaires sont des tubes ouverts (généralement) en silice fondue de diamètre interne 100 à 300 μm et d'épaisseur de paroi d'environ 50 μm. Contrairement aux colonnes pleines, elles sont de très grandes longueurs qui peuvent aller jusqu'à 100 mètres. La phase stationnaire recouvre la paroi interne sur une épaisseur régulière de quelques centièmes à quelques dixièmes de μm, déposée ou greffée. Ce sont des colonnes WCOT (« wall coated open tubular ») ou PLOT (« porous layer open tubular ») suivant la nature de la phase.

Certaines colonnes de 530 μm de diamètre interne et de 5 à 50 m de longueur sont désignées par « widebore », « megabore » ou « macrobore ». Elles nécessitent un débit minimum de 5 ml/min qui peut atteindre 15 ml/min. Elles présentent des performances inférieures aux colonnes capillaires classiques.

L'efficacité d'une colonne de chromatographie gazeuse (contenant une phase stationnaire donnée) dépend de la vitesse de la phase mobile, comme le prévoit l'équation de Van Deemter (qui présente une courbe avec un minimum pour H, soit un optimum d'efficacité). Pour une vitesse donnée de phase mobile, l'efficacité augmente notamment avec :

– une diminution de l'épaisseur de film de phase stationnaire (aux dépens de k'),

– une diminution de la viscosité de la phase stationnaire liquide entraînant une diminution coefficient de diffusion moléculaire dans cette phase,

– une diminution de la perte de charge (δP) aux dépens de la qualité du remplissage (λ).

Phases stationnaires

Le choix de la phase stationnaire est évidemment déterminant sur l'efficacité et la qualité de l'analyse, il est fonction de la polarité de cette phase qui gouverne les principales interactions avec les composés à chromatographier. En chromatographie gaz-liquide (CGL) la phase stationnaire est un liquide (à la température de l'analyse) thermiquement stable et inerte chimiquement avec l'échantillon à analyser. Son dépôt ou greffage est réalisé soit sur un support granuleux (colonnes pleines) soit sur les parois internes du tube (colonnes capillaires).

En CGL, il existe un nombre très important de phases stationnaires notamment pour les colonnes pleines, mais pour les colonnes capillaires le choix est plus réduit car les conditions de fabrication ne sont pas toujours com-

patible avec la nature de la phase stationnaire. Deux principaux types de composés sont aujourd'hui largement utilisés :

– les polysiloxanes : $\Xi Si–[O– Si(R_1,R_2)]_m$ avec R = alkyle ou aryle (méthyle ou phényle), la plus connue étant la phase « Squalane » ;

– les polyéthylèneglycols : $\Xi Si–[O–CH_2–CH_2]_n$ de type « Carbowax » (1 500 à 20 000 daltons), dont la plus connue est le « Carbowax 20M ».

En CGS, les phases stationnaires sont des matériaux solides adsorbants, soit minéraux à base de silice ou d'alumine, soit organiques de type polymères poreux. Ces phases sont utilisées soit en colonne pleine soit en fine couche uniforme sur les parois du tube en colonne capillaires de type « PLOT ».

Plusieurs types de phases stationnaires de colonne capillaire sont mentionnés dans le tableau ci-dessous, pour les micropolluants organiques concernant cet ouvrage.

Phases stationnaires de colonnes capillaires utilisées pour l'analyse de micropolluants organiques par CG

Polarité	Phases stationnaires	Exemples de marque	Applications (micropolluants organiques)	Paragraphes
Apolaire	Diméthylpolysiloxane (100 %)	DB-1, BP-1, SBP-1, GB-1, CP-Sil5, 007-1, HP-1, OV-1, SE-30, RSL-150, Rtx-1 UB-1	- Complexants - Epichlorhydrine - Hydrocarbures totaux - Organostanniques - Pesticides organo-chlorés - PCB - Chlorobenzènes - Pesticides organo-phoshorés - Chlorophénols - Nitrophénols dérivés - Phtalates	A-10.11 A-10.14 A-10.18 A-10.22 A-10.24.1 A-10.24.1 A-10.9 A-10.24.2 A-10.25.3 A-10.25.5 A-10.26
	Copolymère de diphényle (5 %) -diméthylpolysiloxane (95 %)	DB-5, DB-5MS, DB-5ht, DB-5.625, SPB-5, XTI-5, Mtx-5, GC-5, CPSil-8CB/MS, 007-2, RSL-200, OV-5, SE-54, SE-52, Rtx-5, Rtx-5MS, PTE-5, MDN-5/S, BPX-5, BP-5, UB-5	- Aldéhydes - Haloacétates (AOX) - BTEX - THM -Chlorure de vinyle - Dichloro-1,2 éthane - Tétrachloroéthylène - Trichloroéthylène - Hormones - Pesticides organo-chlorés - PCB - Chlorobenzènes - Triazines - Chlorophénols - Nitrophénols dérivés - Alkylphénols - Bisphénol A - Phtalates	A-10.4 A-10.5 A-10.8 A-10.17 A-10.10 A-10.12 A-10.29 A-10.29 A-10.23 A-10.24.1 A-10.24.1 A-10.9 A-10.24.3 A-10.25.3 A-10.25.5 A-10.25.6 A-10.25.7 A-10.26
Faible à moyenne	Copolymère de cyano-propylphényle (6 %) -diméthylpolysiloxane (94 %)	DB-1301, DB-624, Rtx-1301, Rtx-624, Mtx-1301, Mtx-624, CP-624, UB-1301	- Hydrocarbures aromatiques monocycliques - Dichloro-1,2 éthane - Chlorure de vinyle - Hydrocarbures totaux - Esters méthyliques des acides phénoxyacétiques - Pesticides multi-résidus - Chlorophénols	A-10.15 A-10.12 A-10.10 A-10.18 A-10.24.5 A-10.24.8 A-10.25.3

Polarité	Phases stationnaires	Exemples de marque	Applications (micropolluants organiques)	Paragraphes
Intermédiaire	Copolymère de diphényle (35 %) -diméthylpolysiloxane (65 %) ou Copolymère de diphényle (35 %) – diméthyl arylène siloxane (65 %)	HP-35, DB-35, Rtx-35, SPB-35, AT-35, Sup-Herb	- Certains résidus pharmaceutiques - Certains pesticides	A-10.28 A-10.24
	Copolymère de cyanopropylphényle (14 %) -diméthylpolysiloxane (86 %)	DB-1701, Rtx-1701, SPB-7, SPB-1701, BP-10, OV-1701, 007-1701, CPSil-19CB, UB-1701	- Certains pesticides	A-10.24
	Copolymère de diphényle (50 %) -diméthylpolysiloxane (50 %)	DB-17, DB-17ht, 007-17, OV-17, SPB-50, SP-2250, Rtx-50, CPSil-19, CP-RSL-300, BPX-200, Sil-24CB, UB-17	- Certains résidus pharmaceutiques - Esters méthyliques d'acides gras	A-10.28
Polaire	Polyéthylène glycol modifié par TPA	OV-351, SP-1000, DB-FFAP, 007-FFAP, UB-FFAP	- Aminotriazole après dérivation - Acides - Alcools	A-10.24.7
	Polyéthylène glycol greffable INNOphase	Carbowax-20M, BP-20, 007-CW, CP-Wax52CB, Supelcowax-10, DB-WAXetr	- Alcools - Acides libres	
	Polyéthylène glycol greffé réticulé	Carbowax-20M, DB-WAX, Rt-WAX, UB-WAX	- Amines	

Remarque

On choisit généralement les phases stationnaires en fonction de leur polarité, en respectant les règles suivantes :

– les composés polaires traversent plus rapidement les colonnes non polaires que les composés non polaires de même température de vaporisation ;

– les composés polaires sont plus retenus sur les colonnes polaires que les composés non polaires de même température de vaporisation ;

– un composé polaire est d'autant plus retenu que la polarité de la phase stationnaire est élevée ;

– les composés non polaires sont élués sur les colonnes non polaires dans l'ordre croissant de leur température de vaporisation.

L'indice de rétention (I_R), défini ci-dessus, peut être utilisé pour définir la polarité de la phase stationnaire, par l'intermédiaire de la constante de Mc Reynolds ou équivalent. Cinq composés témoins de structures différentes (généralement : benzène, 1-butanol, 2-pentanone, nitropropane et pyridine) qui possèdent par définition une valeur nulle de I_R sur la phase de type « Squalane » (phase apolaire de base) sont chromatographiés sur la phase étudiée. La somme des cinq I_R constitue la constante de Mc Reynolds, constante qui est d'autant plus élevée que la polarité est grande.

Phase mobile ou gaz vecteur

Le choix du gaz vecteur doit être effectué en tenant compte de la compatibilité avec le détecteur, la phase mobile et doit être inerte chimiquement avec l'échantillon.

Les gaz diazote, hélium ou dihydrogène sont les phases mobiles utilisées dans la pratique. Ils proviennent d'un réservoir sous pression ou d'un générateur (cas de N_2 et H_2). La pression du gaz vecteur en tête de colonne est de quelques dixièmes de bar à quelques bars (1 bar = 100 kPa).

Remarque

Il est important de prévoir des filtres purificateurs de gaz pour éliminer les traces d'hydrocarbures, de vapeur d'eau et de dioxygène.

Systèmes d'injection

Le mélange à analyser doit être introduit dans la colonne sans interrompre le flux de phase mobile. La technique d'injection dépend de l'état physique (solide, liquide ou gazeux) de l'échantillon et du type de colonne utilisée, la colonne capillaire étant pratiquement la seule utilisée aujourd'hui en analyse de traces organiques dans les eaux.

Les vannes d'injection ne sont pratiquement plus utilisées (sauf cas particulier notamment pour les échantillons gazeux).

Les injecteurs à solution permettent d'introduire dans la colonne une microquantité d'échantillon. L'injection classique, historiquement conçue pour les colonnes pleines, est effectuée, à l'aide d'une seringue, dans un insert qui conduit à une vaporisation directe de l'échantillon. Même en colonne capillaire (la colonne pleine n'étant pratiquement plus utilisée aujourd'hui), cette injection peut être sans division de flux (ou « splitless ») ou avec division (« split »). Dans ce dernier type d'injecteur la division de flux est assurée par un courant de gaz vecteur dans l'injecteur qui dilue l'échantillon, un by-pass sorte de vanne de fuite en exclut une partie importante.

Remarque

Le rapport de division d'un injecteur de type « splitless » est généralement calculé par le rapport « débit sortie split + débit sortie colonne/débit sortie colonne ».

L'injecteur « on column » consiste à injecter l'échantillon directement à l'intérieur de la colonne capillaire avec une seringue spéciale, difficile à maîtriser sans injecteur automatique. Cette injection peut être automatisée.

Des injecteurs spéciaux pour solide (avec pyrolyseur) ou pour composés hautement volatils (« head space » et « purge & trap ») sont également disponibles.

Systèmes de détection

Le détecteur le plus utilisé en chromatographie gazeuse aujourd'hui est le spectromètre de masse. Toutefois, la plupart des méthodes d'analyse normalisées pour les traces de composés organiques dans les eaux recommandent également des détecteurs spécifiques de chromatographie gazeuse. Les détecteurs universels, beaucoup moins sensibles, mais traditionnels, sont plutôt utilisés pour d'autres applications de la chimie analytique.

Les détecteurs classiques universels sont :

– le détecteur à conductibilité thermique (ou catharomètre) reposant sur le principe de la variation de conductibilité thermique dans le gaz vecteur ;

– le détecteur à ionisation de flamme (FID) dont la capacité de combustion produit des ions et des particules chargées qui induisent un courant ionique extrêmement faible entre deux électrodes.

Les détecteurs spécifiques les plus utilisés pour les analyses de traces dans les eaux sont les détecteurs ECD et NPD, le détecteur PID étant cité pour mémoire.

– Le détecteur à capture d'électrons (ECD) longtemps très utilisé en analyse de traces (de plus en plus remplacé aujourd'hui par la spectrométrie de masse) est sensible aux composés organo-halogénés. Une source de β^- de faible énergie (quelques milliCi de ^{63}Ni) qui circule entre deux électrodes et qui ionise N_2 en produisant des électrons libres très mobiles (générant donc courant de base de faible énergie). Quand des molécules possédant un ou plusieurs halogènes pénètrent dans la chambre du détecteur, elles captent des électrons libres et se transforment en ions négatifs moins mobiles. Ce phénomène se traduit par une diminution du courant de base. Attention il y a une réglementation particulière sur l'acquisition, l'utilisation et le contrôle des sources radioactives. La quantité minimale détectable est annoncée à 2,5 10^{-14} g/cm^3 (pour la dieldrine)

– Le détecteur thermoionique (NPD), sensible aux composés azotés ou phosphorés, comporte un petit plasma (alimenté par un mélange air/hydrogène) dans lequel les composés azotés et phosphorés produisent des fragments transformés en ions négatifs. Ces fragments sont recueillis par une électrode collectrice. Sa sensibilité est annoncée à 0,1 pg/s.

– La détecteur à photo-ionisation (PID) fonctionne sur le principe d'une émission de photons (issu d'une lampe UV) émettant des photons très énergétiques. La photo-ionisation d'un composé (hydrocarbures par exemple) produit des électrons qui sont collectés par une électrode.

Comparaison des différents types de détecteurs en CG

	Détecteur à conductibilité thermique	Détecteur à capture d'électrons	Détecteur à ionisation de flamme
Limite de détection	2-5 µg	10^{-5} µg	variable (entre 0,1 et 1 µg)
Étalement de la gamme de mesures (linéarité)	10^3	10^3	10^6-10^7
Gaz porteur	He – CO_2	N_2 (très pur)	N_2, argon
Température limite (°C)	450	^{63}Ni = 350 ^{63}H = 225	400-450
Stabilité	bonne		bonne

Chromatographie liquide haute performance

La chromatographie liquide en colonne est aujourd'hui utilisée que sous sa forme moderne dite de « haute performance » (« CLHP » ou « HPLC »). Une des causes de son succès croissant est évidemment la possibilité de travailler directement sur l'échantillon aqueux, d'analyser des composés polaires et thermosensibles et d'utiliser des couplages avec la spectrométrie de masse de plus en plus performants.

On distingue la phase normale (d'adsorption) et la phase inverse (de partition). D'autres techniques existent (échanges d'ions, appariement d'ions ou de paires d'ions, échanges de ligands, d'exclusion stérique).

Une installation comporte plusieurs modules reliés par des micro-tuyauteries en acier ou en polymère. Le volume de ces micro-tuyaux doit être le plus faible possible pour limiter les volumes morts, les phénomènes de dilution et de distorsion des pics. Le schéma ci-dessus reprend les principaux éléments.

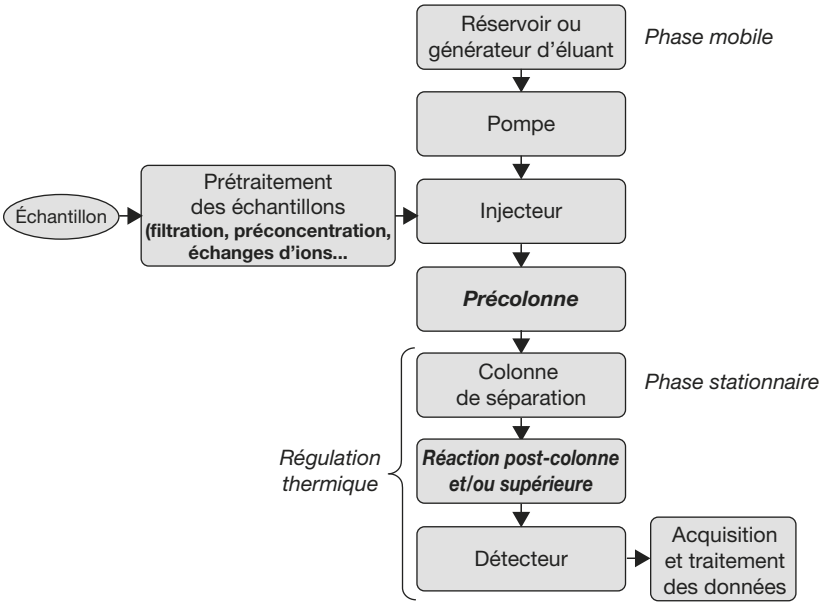


Schéma des principaux éléments d'une HPLC

Colonnes

Comme en chromatographie gazeuse, la colonne est le cœur du système. Elle contient la phase stationnaire solide (CLS) ou liquide (CLL) et il est préférable de la maintenir à température constante.

La colonne est constituée d'un tube est droit, la plupart du temps en acier. Sa géométrie classique est 10 à 20 cm de longueur et ¼ de pouce de diamètre (4,5 mm de diamètre intérieur). Des colonnes « narrow-bore » (2 à 4 mm) ou « micro-bore » (1 à 2 mm), voire capillaires remplies (0,1 à 1 mm) remplacent progressivement les colonnes standard, notamment pour simplifier les problèmes de couplage avec la spectrométrie de masse. Ce tube contient la phase stationnaire, bloquée par des disques frittés en entrée et en sortie du tube.

Par comparaison avec la chromatographie gazeuse, la température ne joue qu'un rôle secondaire, mais mérite d'être régulée. La viscosité de la phase mobile et le remplissage de la colonne occasionnent une perte de charge très élevée par rapport à la chromatographie gazeuse.

La colonne est souvent précédée d'une pré-colonne de faible longueur et de phase compatible, changée plus régulièrement que la colonne. Cette pré-colonne a pour rôle essentiel de préserver la colonne analytique, et donc, la qualité de la séparation.

L'efficacité de la colonne peut être évaluée par les mêmes paramètres qu'en chromatographie gazeuse (N, H, R_S), le nombre de plateaux théoriques (N) étant toutefois plus faible. Le tableau ci-dessous présente les conditions idéales de fonctionnement pour différentes tailles de particules de phases stationnaires (d_p).

Caractéristiques optimales des colonnes de HPLC

d_p (en µm)	N (L = 20 cm)	H (µm)	Vitesse H_2O (m/s)	Débit H_2O (mL/min)	ΔP/L (bar/m)	ΔP (bar) (L = 20 cm)
10	8000	25	$0,3\ 10^{-3}$	0,33	30	6
5	16000	12,5	$0,6\ 10^{-3}$	0,67	240	48
2	40000	5	$1,5\ 10^{-3}$	1,67	3750	750

Phases stationnaires

La polarité des phases stationnaires détermine le mode de chromatographie liquide. Quand la phase stationnaire est apolaire (phase mobile polaire), on parle de chromatographie liquide en mode inverse ou de phase inverse (CLL). Quand la phase stationnaire est polaire (phase mobile non polaire), on parle de mode normal ou de phase normale (CLS). La chromatographie phase inverse est la plus utilisée pour l'analyse des micropolluants organiques dans les eaux.

Les phases stationnaires sont des microparticules solides sphériques de 2 à 10 µm. La matière de base est la silice amorphe (gel de silice) qui comporte des groupes silanols. Les phases monomériques, films liquides de 10 à 15 µm d'épaisseur, sont greffées sur les fonctions silanols de surface conduisant à une fonction de type $\equiv$Si-O-$SiMe_2R$. Le groupement R est généralement un groupe alkyle de type :

– C_8H_{17} (appelé C8 ou RP8).

– $C_{18}H_{37}$ (C18 ou RP 18).

Les phases monomériques RP8 ou RP18 couvrent la majorité des applications, mais d'autres groupes peuvent être greffés (aminopropyle, cyanopropyle, benzyle, etc.). On peut également provoquer une polymérisation du réactif avant dépôt et greffage pour obtenir ainsi une couche polymérique réticulée.

Remarques

– Attention, le facteur de capacité d'un composé donné peut varier très significativement (facteur 10) entre différentes silices greffées commerciales.

– La principale phase stationnaire utilisée pour l'analyse des micropolluants est de type C18.

Phases mobiles

En mode inverse (CLL), le pouvoir d'élution de la phase mobile croît avec la diminution de sa polarité. En mode normal, son pouvoir d'élution augmente avec sa polarité. L'élution peut se faire à composition constante (élution isocratique) ou en mélangeant progressivement plusieurs solvants (élution avec gradient)

Les solvants peuvent être stockés et traités (dégazés par exemple). En cas de plusieurs réservoirs de solvants, une vanne multi-voies permet de commander l'entrée aspiration sur les différents solvants.

La polarité d'un solvant peut être définie (entre autres théories plus complexes) par la polarité de Snyder (P') qui lorsqu'elle varie de deux unités induit une variation d'un facteur d'environ 10 sur le facteur de capacité d'un composé élué. Le tableau suivant présente la polarité de nombreux solvants.

Polarité et autres caractéristiques des solvants utilisables en CLHP

Solvant	λ_{min} d'utilisation	μ à 25 °C (milli Pascal. s ou cPoise)	Solubilité dans l'eau (en % massique)	Polarité de Snyder (P')
Eau	190	0,89		10,2
Diméthylsulfoxyde	268	2,00	miscible	7,2
Acide acétique	251	1,1	miscible	6,2
Acétonitrile	190	0,34	miscible	5,8
Méthoxy-éthanol	210	1,6	miscible	5,5
Méthanol	205	0,54	miscible	5,1
Dioxanne	215	1,20	miscible	4,8
Méthyléthyl cétone	329	0,38	23,4 %	4,7
Ethanol	210	1,08	miscible	4,3
Acétate d'éthyle	256	0,43	9,8 %	4,4
2-propanol	240	1,90	miscible	4,0
Tétrahydrofuranne	212	0,46	miscible	4,0
n-Butanol	210	2,6	20,1 %	3,9
n-Octanol	205	7,3	3,9 %	3,4

Remarque

Les solvants de base en chromatographie phase inverse sont l'eau (ultra-pure), l'acétonitrile et le méthanol (peu de différences sur les paramètres d'élution entre ces deux derniers solvants) et les mélanges de ces solvants.

Injecteurs

Les injections en CLHP sont effectuées par boucle d'injection manuelle ou automatique de quelques dizaines de microlitres.

Systèmes de pompage

En élution isocratique une seule pompe suffit alors qu'en élution par gradient deux pompes sont nécessaires (le mélange est alors fait dans une chambre de mélange qui assure l'homogénéité de la phase mobile en sortie) ou une pompe avec programmation d'un mélange à l'aspiration.

Les pompes utilisées sont des pompes à piston qui doivent présenter de très grandes qualités, en termes de régularité des débits, stabilisateurs de haute pression (anti-pulsateur) et résistance à la corrosion.

Pour obtenir des micro-débits (1 μL/min), dans le cas d'utilisation de colonnes capillaires, on utilise les mêmes pompes avec un by-pass qui dirige la partie la plus faible du débit vers la colonne.

Détecteurs

Le détecteur universel est le photomètre ou le spectromètre UV. Il est très fréquemment remplacé par le détecteur à barrette de diodes couplé de plus en plus aujourd'hui à la spectrométrie de masse.

Outre la spectrométrie de masse les détecteurs sensibles en CLHP sont spécifiques. On distingue :

– le détecteur spectrométrique UV monochromatique ou polychromatique (le détecteur à barrette de diodes permet entre autres de s'assurer de l'identité des composés séparés) ;

– le détecteur spectrofluorométrique qui est sensible et sélectif et utilisable pour des composés naturellement fluorescents ou ayant subi une dérivation avec un groupement fluorophore ;

– le détecteur réfractomètre différentiel ;

– le détecteur conductimétrique pour les composés ionisés ou ionisables ;

– en détection fluorimétrique, l'intensité du rayonnement fluorescent est proportionnelle à l'intensité lumineuse absorbée. La réponse de ce type de détecteur n'est linéaire qu'aux faibles concentrations donc à utiliser pour l'analyse de traces (10 à 15 fentomoles injectées).

10.2 Acrylamide (limite de qualité « Eau potable »)

L'acrylamide (H_2C=CH-CO-NH_2, N° CAS 79-06-1) est le monomère des polyacrylamides anioniques, floculants (appelés souvent adjuvants de

floculation) assez fréquemment utilisés en traitement des eaux de surface destinées à la consommation humaine. C'est donc un paramètre de qualité « Eau potable » dont la valeur est fixée à 0,1 µg/L. La méthode de dosage n'est pas encore parfaitement au point en 2009. C'est pourquoi les services de santé ne l'exigent pas pour le contrôle sanitaire.

■ Principe et méthode (résumé)

Certains laboratoires utilisent une méthode qui consiste à évaporer à sec l'échantillon aqueux, sous courant d'azote à 40 °C et à reprendre le résidu par un solvant polaire pour analyse en LC/MS/MS en mode APCi. Une colonne de type LC-ABZ+(5 µm) permet de retenir l'acrylamide pendant environ 3 à 4 minutes dans les conditions suivantes de gradient d'élution :

– 1 mL/min,

– isochratique pendant 2 minutes : 95 % EUP et 5 % acétonitrile,

– gradient linéaire de 2 à environ 12 minutes, jusqu'à 5 % EUP et 95 % acétonitrile,

– température de colonne : 40 °C,

– volume injecté : 100 µL.

La limite détection peut atteindre 0,02 µg/L.

10.3 Agents de surface (tensioactifs, détergents)

On a l'habitude de désigner par détergent (du latin *detergere* : nettoyer), les produits susceptibles de permettre les opérations de nettoyage. À cette définition étymologique se sont superposées celles plus générales d'agent de surface, de tensioactif, surfactif, syndet, tenside. Un *surfactif* est défini comme un composé chimique qui, dissous ou mis en suspension dans un liquide, est préférentiellement adsorbé à une interface, ce qui détermine un ensemble de propriétés physico-chimiques ou chimiques d'intérêt pratique. La molécule d'un composé comporte au moins un groupement susceptible d'assurer une affinité pour les surfaces nettement polaires, d'entraîner le plus souvent la solubilisation dans l'eau et un radical ayant peu d'affinité pour l'eau. Cette structure permet la modification de certaines propriétés physiques au niveau des contacts solides-liquides et l'abaissement des tensions superficielles. Cette action constitue le facteur essentiel dans les opérations de nettoyage.

On distingue, selon la nature du groupement polaire hydrophile : les agents de surface anioniques, cationiques, non ioniques et les amphotères.

Les *agents de surface anioniques* représentent la très grande majorité des produits utilisés pour le nettoyage, les plus répandus étant ceux d'origine pétrolière (alkylsulfates, alkylsulfonates et alkylarylsulfates à chaîne linéaire ou ramifiée).

Les *agents de surface cationiques* possèdent un ou plusieurs groupements fonctionnels qui, en solution aqueuse, fournissent des ions chargés positivement. Dans la pratique, ces agents de surface sont généralement des

chlorhydrates d'amine ou des dérivés d'ammonium quaternaire. S'ils possèdent des propriétés désinfectantes et germicides intéressantes, ils sont peu employés comme détergents. Ils servent au mordançage et au matage des tissus.

Les *agents de surface non ioniques* sont constitués par des molécules renfermant des groupements hydroxylés hydrophiles et des groupements lipophiles ; les groupements hydroxylés ne s'ionisent pas en solution. Ils sont élaborés par fixation de polymères d'oxyde d'éthylène ou de propylène sur des molécules à hydrogène mobile (alcool, acide), d'amine, etc. Leur utilisation se développe dans l'industrie textile (traitement de la laine brute et du coton) et du cuivre, les industries métallurgiques (décapage et lubrification), pharmaceutiques et cosmétologiques. Pour l'usage domestique, ils entrent jusqu'à 50 % dans les poudres dites « spéciales non moussantes » pour machine à laver et les détersifs pour textiles délicats.

Les *agents de surface amphotères* s'ionisent suivant les conditions du milieu avec les caractéristiques d'un agent de surface anionique ou cationique.

10.3.1 Agents de surface anioniques (Indice SABM)

La méthode proposée repose sur la formation de complexes extractibles par un solvant organique ; elle est basée sur le dosage spectrométrique d'un complexe agents de surface-bleu de méthylène. Elle ne permet de doser que les agents de surface anioniques ayant au moins cinq atomes de carbone et s'adresse particulièrement à ceux de type sulfonate et sulfate. Elle est sensible à de nombreuses interférences (sulfures, sulfates, thiocyanates, substances organiques diverses, protéines, etc.) et peut par ailleurs être adaptée au flux continu.

Dans certains cas, il peut être nécessaire d'effectuer une concentration préalable soit par adsorption soit par extraction liquide-liquide.

La concentration sur charbon activé se fait par ajout à l'eau de 1 ‰ en masse de charbon activé et une agitation énergique. Après centrifugation, le charbon est élué en milieu alcalin à chaud par un mélange benzène-méthanol.

La concentration liquide-liquide se fait en opérant avec 1 litre d'eau et 15 mL de chloroforme. Dans ce cas, l'agitation doit être particulièrement soignée en évitant les émulsions. On peut aussi faire les extractions en traitant successivement plusieurs échantillons de 200 mL d'eau par la même quantité de chloroforme (15 mL). Si l'on souhaite opérer rapidement en traitant de plus grands volumes d'eau, il est alors préférable d'utiliser la méthode d'extraction liquide-liquide décrite dans ce même chapitre (A-13.1) pour l'obtention de l'extrait chloroformique.

Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En solution aqueuse, les agents de surface anioniques forment avec le bleu de méthylène, un complexe soluble dans le chloroforme, susceptible d'un

dosage spectrométrique. La méthode convient aux eaux dont la concentration est comprise entre 0,1 et 5 mg/L.

Prélèvements

Prélever en flacon de verre ou en plastique à usage unique.

Effectuer le dosage le plus rapidement possible ou conserver l'échantillon à 4 °C. Si le délai dépasse 24 h, ajouter 10 mL de solution de formaldéhyde à 40 % par litre d'eau.

Matériel spécial

– Laver la verrerie avec de l'eau ultra-pure ou de qualité équivalente et une solution alcoolique d'acide chlorhydrique à 10 %. Rincer à l'eau ultra-pure.

– Ampoule à décanter de 1 L.

– Appareil d'extraction en courant gazeux (*voir* schéma dans la méthode de dosage des agents de surface non ioniques ; A-10.3.3).

– Appareil à ébullition sous reflux comprenant un ballon à fond rond et un réfrigérant ascendant munis de rodages.

– Calotte chauffante de bain-marie.

– Spectromètre.

Réactifs

– Solution de tétraborate de sodium à 19 g/L :

tétraborate de sodium ($Na_2B_4O_7$, 10 H_2O)		19 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Conservée en flacon de verre bouché, cette solution est stable au moins un mois.

– Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 *N* :

hydroxyde de sodium		4 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Conservée en flacon de verre bouché avec un bouchon de polyéthylène, cette solution est stable deux semaines.

– Solution tampon *p*H 10.

Mélanger à parties égales la solution de tétraborate de sodium et celle d'hydroxyde. Conservée en flacon de verre obturé par un bouchon en polyéthylène, cette solution est stable au moins une semaine.

– Solution neutre de bleu de méthylène :

bleu de méthylène		0,35 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 L

Ne pas utiliser au-delà de 12 heures. À laver par le chloroforme, immédiatement avant l'emploi.

– Solution alcaline de bleu de méthylène.

Dans une ampoule à décanter de 1 L, introduire 100 mL de solution neutre, 200 mL de solution tampon *p*H 10 et 200 mL de chloroforme. Agiter pendant 30 secondes.

Après décantation, éliminer la phase organique aussi complètement que possible. Rincer la phase aqueuse en la faisant traverser par 60 mL de chloroforme sans agiter. Procéder à une deuxième extraction et rinçage comme précédemment. Rejeter les extraits chloroformiques.

– Solution acide de bleu de méthylène.

Ajouter 6,5 mL d'acide sulfurique (d = 1,84) à 1 litre de solution neutre de bleu de méthylène. Préparer cette solution au moins 24 h avant son utilisation. Traiter cette solution par le chloroforme comme précédemment.

– Chloroforme.

– Éthanol absolu (C_2H_5OH).

– Solution alcoolique d'hydroxyde de sodium à 0,1 *N* :

hydroxyde de sodium en pastilles	4 g
éthanol absolu	*q.s.p.* 1 L

– Solution d'acide sulfurique environ 1 *N*.

– Solution alcoolique de phénolphtaléine :

phénolphtaléine	1 g
éthanol	50 mL
eau ultra-pure	50 mL

Dissoudre la phénolphtaléine dans l'éthanol puis verser l'eau ultra-pure en agitant continuellement. Filtrer.

– Chlorure de sodium.

– Acétate d'éthyle ($CH_3COOC_2H_5$).

– Méthanol fraîchement distillé et conservé en flacon de verre.

– Solution mère étalon d'ester méthylique de l'acide dodécylbenzène sulfonique.

Peser dans un ballon de 250 mL à fond rond et col rodé 400 mg d'ester méthylique de l'acide dodécylbenzène sulfonique, ajouter 50 mL de solution alcoolique d'hydroxyde de sodium et un régulateur d'ébullition. Placer le ballon sous réfrigérant à reflux et porter à l'ébullition pendant une heure. Après refroidissement, rincer l'intérieur de l'appareil avec 30 mL d'éthanol, joindre le liquide de lavage au contenu du ballon. Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine et neutraliser jusqu'à décoloration de la phénolphtaléine avec la solution d'acide sulfurique *N*. Transvaser la solution dans une fiole jaugée de 1 litre. Compléter le volume à 1 L avec de l'eau ultra-pure. Mélanger soigneusement.

Cette solution est stable pendant 6 mois.

– Solution fille étalon d'ester méthylique de l'acide dodécylbenzène sulfonique à 10 mg/L :

solution mère étalon	25 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.* 1 L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, procéder aux dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon d'ester méthylique de l'acide dodécylbenzène sulfonique à 10 mg/L (mL)	0	1	2	4	6	8
Eau ultra-pure (mL)	100	99	98	96	94	92
Correspondance en mg/L d'ester méthylique de l'acide dodécylbenzène sulfonique	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8

Poursuivre comme pour le mode opératoire.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'échantillon dans une ampoule à décanter de 250 mL, puis 15 mL de solution de bleu de méthylène alcaline et 15 mL de chloroforme. Tenir l'ampoule horizontalement après l'avoir bouchée et la secouer régulièrement deux fois par seconde environ pendant 1 min. Placer l'ampoule sur un support. Après séparation des phases, agiter l'ampoule d'un mouvement de rotation pour décrocher les gouttes de chloroforme adhérant aux parois. Laisser décanter pendant 2 min puis récupérer le maximum de chloroforme dans une deuxième ampoule à décanter contenant 110 mL d'eau ultra-pure et 5 mL de solution acide de bleu de méthylène. Agiter comme précédemment 1 min. Après décantation obtenue en prenant les mêmes précautions que pour la précédente, filtrer la phase chloroformique sur un entonnoir contenant un tampon de laine de verre rincé avec du chloroforme placé au-dessus d'une fiole jaugée de 50 mL.

Renouveler deux fois chacune des extractions alcaline et acide avec 10 mL de chloroforme. Récupérer les extraits chloroformiques. Filtrer comme décrit pour la première extraction et les recueillir dans la fiole jaugée de 50 mL. Ajuster le volume avec du chloroforme.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 650 nm dans des cuves de 10 mm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL, la courbe donne directement la teneur en agents de surface anioniques exprimée en milligrammes d'ester méthylique de l'acide dodécylbenzène sulfonique.

L'indice au bleu de méthylène (SABM) en tant que concentration en masse est exprimé en microgrammes de sel de sodium de l'acide dodécylbenzène sulfonique par millilitre d'échantillon.

Remarques

– Les techniques de concentration et de séparation au moyen de l'appareil d'extraction des agents de surface permettent de s'affranchir de certaines interférences. Se reporter au dosage des agents de surface non ioniques (A-10.3.3) pour l'extraction et la concentration jusqu'à la reprise du résidu par 5 mL de méthanol et 50 mL d'eau ultra-pure. Compléter à 100 mL avec de l'eau ultra-pure. Poursuivre selon le mode opératoire sur une aliquote de concentrat.

– La prise d'essai doit contenir entre 20 et 200 µg d'agent de surface. Dans le cas des eaux très polluées, opérer sur 10 mL dilués à 100 mL avec de l'eau ultra-pure. La limite de sensibilité est de 0,05 mg/L.

– La précision est de 5 à 10% pour des concentrations supérieures à 100 µg/L.

– La réaction spécifique ne se produit plus dès que la partie hydrophobe de la chaîne ou du cycle hydrocarboné a subi une dégradation significative. Ainsi, une chaîne en C8 réagit encore très faiblement, alors qu'une chaîne en C6 ne réagit pratiquement plus.

Lors de la biodégradation, l'action bactérienne s'exerce sur le groupe hydrophobe et la vitesse de sa disparition renseigne sur la vitesse de destruction du produit.

– Le dosage peut donner des résultats par excès dus à la présence de sulfonates, sulfates, phosphates organiques, phénols, cyanates, thiocyanates, etc. La présence d'amines peut entraîner des résultats minorés.

– S'il se produit dans la première ampoule une émulsion lors de l'agitation de la prise d'essai avec le chloroforme, on peut la détruire par centrifugation ou par agitation avec une tige de verre aplatie.

– Dans les eaux chargées en matières solides ou en micro-organismes, l'adsorption des détergents sur les particules en suspension peut entraîner d'importantes erreurs par défaut. Il peut alors être utile de pratiquer une extraction préalable par solvant de la matière active de l'extrait sec de l'échantillon.

10.3.2 Agents de surface cationiques

■ Principe

Les ammoniums quaternaires donnent, en milieu alcalin, avec certains solvants anioniques, des combinaisons extractibles par les solvants organiques. La coloration rouge obtenue est susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ **Réactifs**

– Solution aqueuse d'hélianthine à 0,15 %.

– Solution d'hydroxyde de sodium :

hydroxyde de sodium		200 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Chloroforme pur.

– Acide chlorhydrique 2 *N*.

– Solution mère d'agent de surface cationique à 100 mg/L. Utiliser comme agent de surface celui dont l'enquête aura révélé l'utilisation prédominante.

– Solution fille à 20 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/5 avec de l'eau ultra-pure.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décantation de 125 mL, introduire successivement :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon à 20 mg/L (mL)	0	1	2	3	4	5
Eau ultra-pure (mL)	50	49	48	47	46	45
Correspondance en mg/L	0	0,4	0,8	1,2	1,6	2
Solution d'hélianthine (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Solution d'hydroxyde de sodium (mL)	1	1	1	1	1	1
Chloroforme (mL)	20	20	20	20	20	20

Agiter vigoureusement environ 3 minutes. Laisser reposer. Transvaser la couche chloroformique dans une deuxième ampoule à décantation et l'agiter avec 5 mL d'acide chlorhydrique 2 *N*. Laisser reposer. Soutirer la couche supérieure chlorhydrique colorée en rouge. Effectuer les lectures au spec-

tromètre à la longueur d'onde de 508 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire dans une ampoule à décantation de 125 mL, 50 mL d'eau à analyser puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 50 mL d'eau ultra-pure. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 508 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en agent de surface cationique, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– Cette catégorie d'agents de surface est assez difficile à retrouver dans les eaux car ils sont relativement peu utilisés et les agents de surface anioniques les précipitent.

– Certains auteurs utilisent pour l'étalonnage une solution de bromure de cétylpyridinium ou de bromure d'hexadecyltriméthyl-ammonium.

10.3.3 Agents de surface non ioniques

La méthode décrite ne permet de doser que les agents de surface non ioniques de type alkylphénols ou alcools éthoxylés présentant des chaînes de 6 à 30 groupes d'oxyde d'éthylène. Elle s'applique à des teneurs comprises entre 0,020 et 200 mg/L.

Principe

Les agents de surface non ioniques, concentrés dans l'acétate d'éthyle par entraînement gazeux sont précipités ensuite par le tétra-iodobismuthate de baryum (réactif de Draggendorf). Après séparation et dissolution du précipité, la mesure potentiométrique du bismuth présent permet de déterminer la teneur en agents de surface non ioniques.

Matériel spécial

– Appareil d'extraction en courant gazeux de volume utile de 4,2 à 4,5 litres (*voir* schéma).

– Agitateur électromagnétique avec barreau de 25 à 30 mm de long.

– Creuset filtrant en porcelaine.

– Fiole à vide avec tulipe et manchette de caoutchouc pour creuset filtrant, volume 500 et 250 mL.

– Potentiomètre enregistreur avec électrodes platine calomel, domaine de mesure 250 mV avec burette automatique de 20 à 25 mL ou dispositif manuel approprié.

– Évaporateur rotatif sous vide.

– Flacon laveur à élément fritté de 250 mL.

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de pureté analytique et les solutions préparées avec de l'eau ultra-pure.

– Acétate d'éthyle fraîchement distillé.

– Monohydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$).

– Méthanol conservé en flacon de verre.

– Acide sulfurique.

– Acide acétique à 99-100 %.

Une concentration inférieure à 99 % risque de provoquer une dissolution partielle du précipité.

– Chlorure de sodium.

– Solution d'acide chlorhydrique :

acide chlorhydrique (d = 1,125)		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'ammoniaque :

ammoniaque (d = 0,91)		40 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de tartrate d'ammonium :

acide tartrique ($C_4H_6O_6$)		12,4 g
ammoniaque (d = 0,91)		12,4 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

– Réactif de précipitation.

Solution A :

nitrate basique de bismuth ($BiONO_3$, H_2O) à 80 % de Bi_2O_3		1,7 g
acide acétique		20 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

Solution B :

iodure de potassium		65 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	200 mL

Solution C :

chlorure de baryum ($BaCl_2$, 2 H_2O)		290 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Réunir les solutions A et B, ajouter 200 mL d'acide acétique et compléter à 1 litre. Ajouter 2 volumes de cette solution à 1 volume de solution C. Conservé dans un flacon de verre inactinique, ce réactif est stable une semaine environ.

– Solution tampon *p*H 4,65 :

hydroxyde de sodium		40 g
acide acétique		120 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Introduire l'hydroxyde de sodium dans une fiole jaugée et environ 500 mL d'eau. Après dissolution, verser 120 mL d'acide acétique, mélanger, laisser refroidir puis ajuster le volume à 1 litre.

– Solution mère étalon de cuivre :

sulfate de cuivre ($CuSO_4$, 5 H_2O)		1,246 g
eau permutée	*q.s.p.*	dissoudre
acide sulfurique *N*		50 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Ne pas utiliser de cristaux efflorescents.

– Solution fille étalon de cuivre 0,0005 *N*.

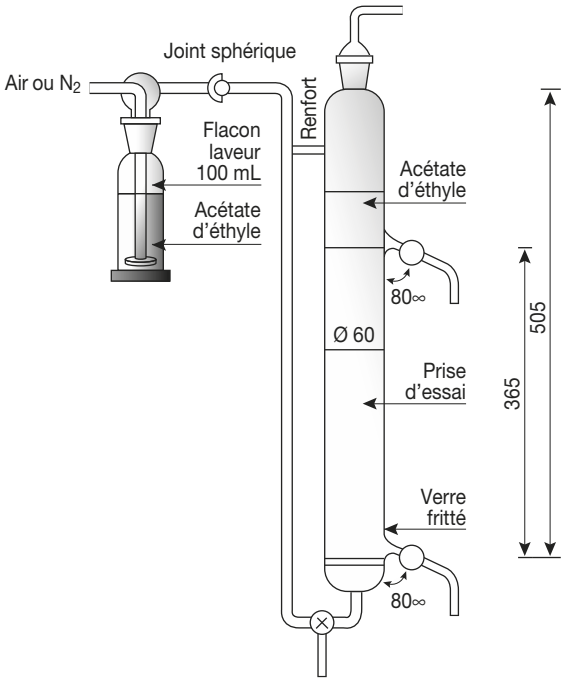
À 50 mL de la solution précédente, ajouter 10 mL d'acide sulfurique *N* et compléter à 1 000 mL.

– Solution de pyrrolidine dithiocarboxylate de sodium 0,0005 *N* :

pyrrolidine dithiocarboxylate de sodium		0,103 g
hydrogénocarbonate de sodium		0,500 g
pentanol		10 mL
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

Vérifier le titre de la solution.

– Solution de pourpre de bromocrésol à 0,1 % dans le méthanol.



Appareil d'extraction

Mode opératoire

Installer l'appareil d'extraction sous une hotte bien aérée. Remplir le flacon laveur aux 2/3 avec de l'acétate d'éthyle, brancher l'appareil d'extraction. Faire arriver un courant gazeux (azote ou air). Introduire successivement dans la colonne :

– 100 mL d'eau ultra-pure,

– la prise d'essai contenant entre 200 et 1 000 µg d'agent de surface non ionique,

– 5 g d'hydrogénocarbonate de sodium,

– 200 g de chlorure de sodium pour favoriser la séparation.

Compléter jusqu'au robinet supérieur avec de l'eau ultra-pure. Si nécessaire, faire barboter le gaz pour dissoudre le chlorure de sodium. Arrêter le courant gazeux quand la dissolution est complète. Verser sur la phase

aqueuse 100 mL d'acétate d'éthyle. Remettre le courant gazeux, régler le débit de 20 à 50 L/h en le contrôlant si possible avec un débitmètre et en évitant toute turbulence. Veiller à ce que les phases restent bien séparées et qu'une émulsion ne se forme pas. Au bout de 5 min, arrêter l'arrivée de gaz ; soutirer la phase organique et la recueillir dans une ampoule à décanter pour récupérer le maximum d'eau qui est réintroduite dans la colonne. Procéder à une deuxième extraction avec 100 mL d'acétate d'éthyle. Faire passer à nouveau un courant gazeux pendant 5 min. Joindre l'acétate d'éthyle au précédent. Rincer avec 50 mL d'acétate d'éthyle la partie supérieure de l'extracteur, le joindre à l'extrait. Filtrer sur filtre en papier à texture lâche. Placer le bécher au bain-marie sous une hotte, évaporer à siccité en balayant la surface avec un léger courant d'air.

Reprendre le résidu par 5 mL de méthanol, agiter, ajouter 40 mL d'eau permutée et 0,5 mL de solution d'acide chlorhydrique. Agiter avec un agitateur magnétique, ajouter 30 mL de réactif de précipitation, maintenir l'agitation, le précipité se forme au bout de 10 à 15 min. Laisser reposer 15 min. Après l'avoir humidifié avec 2 mL d'acide acétique, filtrer sur le creuset filtrant en versant par petites quantités et en amenant à sec avant chaque addition. Lorsque tout le liquide est filtré, faire glisser dans le creuset le barreau magnétique. Couper le vide et rincer le bécher avec 10 à 15 mL d'acide acétique. Les verser sur le filtre, remettre le vide, sécher complètement le précipité. Répéter ce lavage 5 fois. Mettre de côté le bécher qui sera utilisé pour la titration. Laver une nouvelle fois le précipité avec 60 à 80 mL d'acide acétique. Utiliser au total 150 à 200 mL d'acide acétique.

Mettre le creuset filtrant dans une allonge de verre sur une fiole jaugée de 250 mL ; changer le joint de caoutchouc pour éviter les erreurs dues à des apports de réactif de précipitation. Dissoudre le précipité avec 3 fois 10 mL de solution chaude (80 °C) de tartrate d'ammonium, recueillir la solution dans le bécher de précipitation dont les parois auront été lavées avec 20 mL de cette même solution pour dissoudre le précipité y adhérant. Rincer le matériel employé avec de l'eau et la joindre à la solution dans le bécher de précipitation. Le volume ainsi récupéré est de l'ordre de 150 à 200 mL. Agiter avec un agitateur magnétique, ajouter quelques gouttes de pourpre de bromocrésol puis faire virer au violet (*p*H 5,7) par addition de solution d'ammoniaque. Ajouter 10 mL de solution tampon. Immerger l'électrode. Effectuer la mesure potentiométrique au moyen de la solution de pyrrolidine dithiocarboxylate de sodium à raison de 2 mL/min, en plongeant l'extrémité de la burette dans la solution ; tracer la courbe de potentiel. Le point d'intersection des tangentes tracées sur les deux branches de la courbe de potentiel permet de déterminer un volume V_1 .

La même mesure pratiquée sur un témoin constitué d'eau ultra-pure permet d'obtenir un volume V_0 qui doit être inférieur à 1 mL ; dans le cas contraire, vérifier la pureté des réactifs (métaux lourds).

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes de nonyl-phénol à 10 oxydes d'éthylène (*NP* 10) par litre d'eau, et donnés par la relation

$$\frac{V_1 - V_0}{V} \times f \times F$$

f = Facteur de correction de la normalité de la solution de pyrrolidine dithiocarboxylate de sodium.

F = facteur correctif de l'agent de surface, pour *NP* 10 il est égal à 54 (chiffre choisi empiriquement).

V = volume de la prise d'essai (mL).

Remarques

– Le bismuth peut également être dosé par spectrométrie d'absorption atomique (cf. § A-7.9).

– Lorsque la phase organique, lors de l'extraction, se dissout à plus de 20 % dans la phase aqueuse, il convient de reprendre l'opération. De même, si l'interface se déplace vers le haut, vider dans un bécher, par le robinet inférieur, suffisamment de phase liquide pour ramener le liquide juste en dessous du robinet supérieur. Soutirer la phase organique. Réintroduire la phase aqueuse dans l'extracteur. Rétablir le niveau par addition de solvant et reprendre l'extraction avec 200 mL d'acétate d'éthyle.

– Les agents de surface anioniques n'interfèrent pas jusqu'à des teneurs 10 fois supérieures à celles des non ioniques.

– Les agents de surface cationiques sont dosés en même temps, ils peuvent être éliminés par des résines échangeuses d'ions en utilisant la méthode suivante.

Reprendre l'extrait sec par environ 20 mL d'éthanol, faire passer la solution sur une colonne échangeuse d'ions remplie de 10 mL d'échangeur cationique à larges pores (Dowex 50 W × 2 forme *H*). Régler la vitesse de passage pour avoir un goutte à goutte rapide. Rincer avec 50 à 60 mL de méthanol ou en présence d'agent de surface à plus de 25 groupes d'oxyde d'éthylène, par un mélange de 80 % de méthanol et de 20 % de chlorure de méthylène. Évaporer à sec au bain-marie la solution et poursuivre le dosage sur le résidu. Régénérer la résine échangeuse d'ions avant chaque utilisation avec une solution d'acide chlorhydrique dans le méthanol à 5 %. Rincer au méthanol jusqu'à absence de réaction acide au rouge de méthyle. Conserver la résine dans du méthanol.

– Dans le cas où un aplatissement au point d'inflexion est observé au cours du dosage, nettoyer soigneusement l'électrode de platine.

– Cette méthode longue et délicate nécessite un personnel très spécialisé. Pour des examens de routine et des concentrations suffisamment élevées, la méthode iodo-iodurée décrite dans le chapitre des eaux résiduaires est d'une mise en œuvre plus aisée (D.3.1).

– Étant donné la longueur de la chaîne oxyde d'alcane, les facteurs de conversion diffèrent avec chaque agent de surface non ionique.

– Les eaux chargées en matières en suspension, seront préalablement décantées.

– Vérification du titre de la solution de pyrrolidine dithiocarboxylate de sodium.

Pratiquer cette vérification avant chaque dosage. À 10 mL de solution fille étalon de cuivre, ajouter 100 mL d'eau ultra-pure et 10 mL de solution tampon acétate. Procéder au dosage potentiométrique avec la solution de pyrrolidine dithiocarboxylate dans les mêmes conditions que pour le mode opératoire. Soit *x* le volume en mL de solution de pyrrolidine dithiocarboxyalte consommé

$$T = \frac{v}{x}$$

T = Facteur de correction du titre de la solution de pyrrolidine dithiocarboxylate.

v = Volume de solution étalon en mL.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN 903 (mars 1994). Dosage des agents de surface anioniques par mesurage de l'indice au bleu de méthylène SABM. Mars 1994 (indice de classement T90-039).

10.4 Aldéhydes (et chloroaldéhydes)

Les aldéhydes et les chloroaldéhydes sont des sous-produits de désinfection de l'ozonation et/ou de la chloration des eaux destinées à la consommation humaine. Le formaldéhyde, considéré comme un traceur de ces composés, est retenu par certains organismes (notamment l'OMS) parmi les paramètres de contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation.

10.4.1 Méthode par dérivation au PFBHA et chromatographie gazeuse

■ Principe

Les aldéhydes sont dérivés en oximes, dans l'eau, par le pentafluoro-benzylhydroxylamine (PFBHA). Les dérivés (oximes) sont extraits par l'hexane puis analysés par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons.

Prélèvements

Prélever dans des flacons d'analyse (50 à 60 mL) en verre avec septum ou bouchon en PTFE. Neutraliser immédiatement le résiduel de désinfectant, soit par 0,1 mL de la solution concentrée de sulfate d'ammonium, dans le cas d'une chloration par chlore gazeux ou par hypochlorite, soit par 50 μL de la solution concentrée d'iodure de potassium, dans le cas d'un traitement par l'ozone ou le dioxyde de chlore. Ne pas acidifier le prélèvement, mais ajouter 30 mg de sulfate de cuivre (pour 60 mL de prélèvement) afin d'éviter la biodégradation qui peut être rapide avec les aldéhydes.

□ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement d'échantillon en verre avec bouchon en PTFE ;
– Flacons à usage unique, avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;
– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons ECD (se reporter au § A-10.1.2).

□ Réactifs

– La pureté de tous les réactifs est impérative ;
– Eau ultra-pure ;
– Solution de chlorure d'ammonium (200 g/L) ;
– Solution d'iodure de potassium (6,4 g/L) ;
– Sulfate de cuivre pentahydraté ;

– Phtalate acide de potassium ;
– Acide sulfurique concentré ;
– Hexane ;
– Acétonitrile ;
– Solution de PFBHA pour dérivation (à préparer le jour de l'utilisation) :

(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochlorure		150 mg
eau ultra-pure		10 mL

– Solution mère étalon individuel (à conserver au congélateur) :

Formaldéhyde		10 mg
Acétonitrile	*q.s.p.*	25 mL

Préparer une solution mère individuelle pour chaque aldéhyde étudié et conserver dans un flacon muni septum en PTFE ;

– Solution de dopage multi-étalons, par exemple à 10 mg de chaque aldéhyde par litre d'eau.

Aldéhydes dosables et limites de détection par CG

Aldéhydes	Formule moléculaire semi-développée (N° CAS)	Ordre d'élution(*)	Limite de détection(**) (µg/L)
Acétaldéhyde	CH_3-CHO (75-07-0)	2	0,1
Benzaldéhyde	C_6H_5-CHO (100-527)	11	0,15
Butanal	C_4H_9-CHO (123-72-8)	4	0,2
Crotonaldéhyde	CH_3-CH = CH-CHO (123-73-9)	5	0,1
Cyclohexanone	$C_6H_{10}O$ (108-94-1)	8	0,05
Decanal	$C_{10}H_{21}$-CHO (112-31-2)	13	0,2
Formaldéhyde	H-CHO (50-00-0)	1	0,15
Glyoxal	OHC-CHO (107-22-2)	14	0,1
Heptanal	C_7H_{15}-CHO (111-71-7)	9	0,1
Hexanal	C_6H_{13}-CHO (66-25-1)	7	0,1
Méthylglyoxal	CH_3-CO-CHO (78-98-8)	15	0,05
Nonanal	C_9H_{19}-CHO (124-19-6)	12	0,15
Octanal	C_8H_{17}-CHO (124-13-0)	10	0,1
Pentanal	C_5H_{11}-CHO (110-62-3)	6	0,1
Propanal	C_3H_7-CHO (123-38-6)	3	0,05

(*) Ordre de l'élution après dérivation et chromatographie sur colonne capillaire apolaire, gaz vecteur He.
(**) Limite de détection des dérivés avec un détecteur à capture d'électrons (ECD).

Établissement de la courbe d'étalonnage

La solution de dopage est diluée dans l'eau ultra-pure afin d'obtenir des concentrations finales de quelques µg/L.

Mode opératoire

DÉRIVATION

Mélanger dans un flacon (muni d'un septum en PTFE) 20 mL d'échantillon et 10 µL de solution de PBFHA. Ajouter 200 mg de phtalate acide de potassium (pour maintenir le pH à 4) et dissoudre. Ajouter 1 ml de la solution de PFBHA, agiter et laisser agir 2 heures à 35 °C.

EXTRACTION

Ajouter dans chaque flacon, environ 0,05 mL d'acide sulfurique concentré et 4 mL d'hexane (qui peut contenir un étalon interne). Procéder à l'extraction.

ANALYSE CHROMATOGRAHIQUE

Chromatographier sur colonne capillaire apolaire de type copolymère de diphényle-diméthylpolysiloxane avec gradient de température (d'environ 50 °C à environ 220 °C). Le chromatogramme obtenu présente généralement l'ordre d'élution indiqué dans le tableau ci-dessus.

Les limites de détection (ECD) sont de l'ordre de 0,1 µg/L.

Remarques

– Éviter tout contact avec des plastiques à base de formaldéhyde.

– Les étalons internes suivants peuvent être utilisés : 1,2-dibromopropane et décafluorobiphényl

– Le détecteur ECD peut être remplacé par un spectromètre de masse.

– Plusieurs colonnes capillaires peuvent être utilisées, comme par exemple DB-5 ou SPB-5.

10.4.2 Méthode par dérivation au DNPH et chromatographie liquide

Principe

Les aldéhydes sont dérivés en imines, dans l'eau, par la 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH). Les dérivés sont directement chromatographiés par HPLC avec un détecteur à barrette de diodes (DAD).

Prélèvements

cf. § A-10.4.1.

Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement d'échantillon en verre avec bouchon en PTFE ;

– Flacons à usage unique, avec septum en PTFE ;

– Microseringues ;

– Chromatographie liquide haute performance avec détecteur à barrette de diodes (se reporter au § A-10.1.2).

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative ;
– Eau ultra-pure ;
– Solution d'iodure de potassium (6,4 g/L) ;
– Sulfate de cuivre pentahydraté ;
– Acide chlorhydrique 2 M ;
– Acétonitrile ;
– Solution de DNPH pour dérivation (à préparer le jour de l'utilisation) :

2,4-dinitrophénylhydrazine		200 mg
Acide chlorhydrique 2M		100 mL

– Solution mère étalon individuel (à conserver au congélateur) :

Formaldéhyde		10 mg
Acétonitrile	*q.s.p.*	25 mL

Préparer une solution mère individuelle pour chaque aldéhyde étudié et conserver dans un flacon muni septum en PTFE.

– Solution de dopage multi-étalons, par exemple à 10 mg de chaque aldéhyde par litre d'eau.

Aldéhydes dosables et limite de détection par CLHP

Aldéhydes	Formule moléculaire semi-développée (N° CAS)	Limite de détection(*) (µg/L)
Acétaldéhyde	CH_3-CHO (75-07-0)	1,5
Formaldéhyde	H-CHO (50-00-0)	1,5
Propanal	C_3H_7-CHO (123-38-6)	1,5
Monochloroacétaldéhyde	CH_2Cl-CHO (107-20-0)	1,5
Trichloroacétaldéhyde (hydrate de chloral)	CCl_3-CHO (75-87-6)	1,5

(*) Limites de détection (des dérivés) avec un détecteur à barrette de diodes.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

La solution de dopage est diluée dans l'eau ultra-pure afin d'obtenir des concentrations finales de quelques µg/L.

■ Mode opératoire

DÉRIVATION

Mélanger dans un flacon (muni d'un septum en PTFE) 1 mL d'échantillon et 1 mL de mélange (50/50) de solution de DNPH et d'acétonitrile. Laisser agir 30 minutes à température ambiante.

Analyse chromatograhique

Chromatographier sur colonne de type ODS (25 cm, 4,6 mm, 5 μm) et éluer en mode isochratique avec une phase mobile acétonitrile/eau (55/45) à 1 mL/min.

Les limites de détection (DAD) sont de l'ordre de 1,5 μg/L pour un volume d'injection de 10 μL.

Remarques

– Éviter tout contact avec des plastiques à base de formaldéhyde.

– Le dichloroacétaldéhyde peut être détecté, mais n'est pas dosable précisément, car il n'y a pas de référence disponible.

– Le détecteur DAD peut être remplacé par un fluorimètre.

10.5 AOX (et TOX)

Comme précisé § A-9.8, les composés organo-halogénés sont largement représentés dans les eaux naturelles. Leur présence est due en partie aux solvants organiques chlorés (cf. § A-10.17), aux pesticides organo-halogénés (cf. § A-10.23), aux sous-produits de l'industrie chimique comme les polychlorobiphényls (cf. § A-10.23). Dans les eaux potables, eaux de piscine ou encore dans les eaux des circuits de refroidissement, la présence de structures organohalogénées résulte majoritairement de la désinfection par le chlore, voire par la monochloramine. Au cours de cette étape, le chlore réagit sur la matière organique naturelle des eaux pour former des composés organohalogénés (dont les trihalométhanes, les acides haloacétiques, les haloacétonitriles, l'hydrate de chloral, etc.) par incorporation du chlore dans les molécules organiques.

10.5.1 Évaluation globale

cf. § A-9.8 (Composés organohalogénés).

10.5.2 Évaluation spécifique de quelques AOX

Les principaux AOX connus sont présentés dans le tableau ci-après.

Principaux AOX connus potentiellement présents dans les eaux désinfectées par des réactifs chlorés (dichlore, hypochlorites, monochloramine)

AOX	Formule moléculaire semi-développée (N° CAS)
Trihalométhanes (THM)	
Bromodichlorométhane	$CHBrCl_2$ (75-27-4)
Bromoforme (tribromométhane)	$CHBr_3$ (75-25-2)
Chloroforme (trichlorométhane)	$CHCl_3$ (67-66-3)
Dibromochlorométhane	$CHBr_2Cl$ (124-48-1)
Acides haloacétiques (HAA)	
Acide bromochloroacétique	CHClBrCOOH (5589-96-8)
Acide dibromoacétique	$CHBr_2COOH$ (631-64-1)
Acide dichloroacétique	$CHCl_2COOH$ (79-43-6)
Acide monobromoacétique	$CH_2BrCOOH$ (79-08-3)
Acide monochloroacétique	$CH_2ClCOOH$ (79-11-8)
Acide tribromoacétique	CBr_3COOH (75-96-7)
Acide trichloroacétique	CCl_3COOH (76-03-9)
Haloacétonitriles	
Dichloroacétonitrile	$CHCl_2CN$ (3918-12-0)
Dibromoacétonitrile	$CHBr_2CN$ (3252-43-5)
Trichloroacétonitrile	$CHCl_3CN$ (545-06-2)
Autres AOX	
Hydrate de chloral	CCl_3CHO (75-87-6)
Chloropicrine	CCl_3NO_2 (76-06-2)

■ Trihalométhanes

cf. § A-10.17.1 (Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils).

■ Acides haloacétiques

Les acides haloacétiques potentiellement présents dans les eaux sont au nombre de 9, ce sont des acides chloroacétiques, bromoacétiques et mixtes (chlorés et bromés). Les plus présents, en eau de consommation, en

eau de piscines ou en eau de refroidissement désinfectées au chlore (ou à la monochloramine) sont les acides dichloroacétique et trichloroacétique, voire à plus faibles concentrations les acides monochloroacétique, monobromacétique et dibromoacétique. Lors d'une désinfection par le chlore (ou hypochlorite) leur concentration totale est généralement plus faible que celles des THM, alors que lorsque la désinfection par la monochloramine est utilisée (en eau de refroidissement par exemple), ces acides sont beaucoup plus présents que les THM et la part prise (dans les AOX) par l'acide dichloroacétique est particulièrement importante.

La méthode de dosage la plus couramment utilisée consiste à pratiquer successivement :

– une extraction liquide-liquide à pH 2 par le MTBE,

– une pré-concentration suivie d'un séchage de l'extrait par le sulfate de sodium anhydre

– une concentration supplémentaire si nécessaire,

– une dérivation au MTBSTFA ou N-méthyl-N- (*tert*-butyldiméthylsilyl)-trifluoro-acétamide ou au diazométhane,

– une analyse par chromatographie gazeuse (colonne capillaire apolaire de type DB5 ou CPSil) couplée à la spectrométrie de masse (mode SIM).

Des références décrivant cette méthode (ou des méthodes équivalentes) sont disponibles en bibliographie du chapitre A.

Les limites de détection sont de l'ordre de 0,1 μg/L.

■ Autres AOX

Parmi les autres AOX pouvant être détectés dans les eaux désinfectées par des réactifs chlorés, on peut citer :

– les haloacétonitriles,

– l'hydrate de chloral,

– les halocétones,

– la chloropicrine,

– les furanones chlorées de type MX et EMX.

Les haloacétonitriles, haloacétones peuvent être détectées et quantifiées par les méthodes de dosage des hydrocarbures halogénés aliphatiques volatils (cf. § A-10.17) avec une limite détection (par spectrométrie de masse mode SIM) de l'ordre de 1 μg/L (0,2 μg/L pour le trichloroacétonitrile).

L'hydrate de chloral peut être extrait à pH 2 par le MTBE et chromatographié par le même protocole que celui utilisé pour les acides haloacétiques. La limite de détection (SM mode SIM) est de l'ordre de 0,3 μg/L. Ce composé peut être également dosé avec les aldéhydes (cf. § A-10.4.2) avec une limite de détection (DAD) de 1,5 μg/L.

Les furanones chlorées ne peuvent être dosées, actuellement, que par quelques laboratoires de recherche.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 10301 (juillet 1997). Qualité de l'eau – Dosage des hydrocarbures halogénés hautement volatils – Méthode par chromatographie gazeuse (indice de classement T 90-125).

AFNOR NF EN ISO 23631 (juin 2006). Qualité de l'eau – Dosage du dalapon, de l'acide trichloroacétique et d'acides haloacétiques sélectionnés – Méthode par chromatographie gazeuse après extraction liquide-liquide et dérivatisation (indice de classement T 90-182).

10.6 Benzène (limite de qualité « Eau potable »)

Se reporter au § A-10.8 (BTEX) et A-10.15 (Hydrocarbures aromatiques monocycliques).

10.7 Benzo(a)pyrène (limite de qualité « Eau potable »)

Se reporter au § A-10.16 (Hydrocarbures aromatiques polycycliques).

10.8 BTEX

Le sigle BTEX inclut quatre hydrocarbures aromatiques monocycliques qui sont le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes (ortho, méta et para). Ces hydrocarbures aromatiques exprimés en concentrations individuelles (en μg/L) sont souvent utilisés pour caractériser un état de pollution généralement du aux activités industrielles. Leur quantification par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme présente une limite détection de 1 à 2 μg/L. Le couplage à la spectrométrie de masse permet de diminuer cette limite au moins dix fois.

10.8.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« headspace »)

■ Principe

Un certain volume d'eau non filtrée est portée à une température d'environ 60 °C dans un système prévu à cet effet (cf. § A-10.1.1) jusqu'à l'équilibre gaz/liquide. La phase gazeuse est ensuite injectée (manuellement ou automatiquement) dans une chromatographie gazeuse si possible couplée à la spectrométrie de masse.

Prélèvements

Si le prélèvement est directement effectué dans les flacons d'analyse (50 à 60 mL) d'espace de tête en verre avec septum en PTFE, ces flacons ne doivent pas être remplis (2/3 de volume d'eau au maximum). Après sertissage, il faut vérifier qu'aucune fuite n'est possible. Dans ces conditions les flacons peuvent être conservés pendant deux jours, à 4 °C.

Si le prélèvement est effectué dans d'autres types de flacons en verre (minimum 20 mL), remplis jusqu'à débordement puis sertis en absence de toute bulle d'air, une acidification préalable à l'acide sulfurique (pH < 2) permet de les conserver une semaine à 4 °C. Le transvasement dans le flacon d'analyse d'espace de tête est alors effectué au laboratoire dans les conditions mentionnées ci-dessus.

L'idéal est de faire deux prélèvements dont un (au moins) sans bulle.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement d'échantillon en verre avec septum en PTFE ;

– Flacons à usage unique, avec septum en PTFE ;

– Microseringues ;

– Appareillage de dégazage muni d'un système de chauffage de type bain-marie. Des appareils existent dans le commerce, montés en ligne sur la chromatographie (se reporter au § A.10.1.1) ;

– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur FID (se reporter au § A-10.1.2) ou (mieux) couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative ;

– Eau ultra-pure ou déionisée ;

– Étalons externes et étalon interne ;

– Solution mère étalon :

Benzène	10 μL
Méthanol (ou acétone ou diméthylformamide)	5 ml

Dans un flacon serti à usage unique d'environ 10 mL, introduire 5 ml de solvant et injecter 10 μL de benzène. Boucher et agiter. Procéder de la même manière pour chaque étalon externe et/ou étalon interne ;

– Solution étalon de dopage est entre 20 mg/L et 100 mg/L de chaque étalon, à préparer à partir de la solution mère par dilution dans le méthanol (cf. Remarques).

Limites de détection des BTEX

Hydrocarbures aromatiques monocycliques	Formule semi-développée (N° CAS)	Ordre d'élution(*)	Limite de détection(**)	Fragments (m/z)
Benzène	C_6H_6 (71-43-2)	1	0,06 µg/L	78
Toluène	C_6H_5-CH_3 (108-88-3)	2	0,06 µg/L	91-92
Ethyl-benzène	C_6H_5-C_2H_5 (100-41-4)	3	0,06 µg/L	91-106
p- et *m*-xylènes	C_6H_4- $(CH_3)_2$ (106-42-3 et 108-38-3)	4	0,12 µg/L	91-106
o-xylène	C_6H_4-$(CH_3)_2$ (95-47-6)	5	0,06 µg/L	91-106
2-méthyl, 1-propanol (***)	CH_3-CH (CH_3)-CH_2OH			

(*) Ordre d'élution sur colonne capillaire apolaire ou de faible polarité, gaz vecteur He.
(**) Limite de détection par SM (mode SIM).
(***) Étalon interne.

Établissement de la courbe d'étalonnage

La solution de dopage est diluée dans l'eau ultra-pure afin d'obtenir des concentrations finales environ de 10 µg/L à 1 000 µg/L dans l'eau quand le détecteur à ionisation de flamme (FID) est utilisé. Avec le couplage avec la spectrométrie de masse, adapter la courbe d'étalonnage aux concentrations souhaitées.

Mode opératoire

Se reporter aux instructions du fabricant du système « head space » pour le traitement de l'échantillon.

Ajouter une quantité identique d'étalon interne à chaque échantillon et à chaque étalon, en procédant comme pour la gamme étalon, à partir d'une solution de dopage. Traiter le blanc de la même manière. Il est très préférable d'utiliser un système automatique en ligne avec la chromatographie gazeuse. En manuel, les conditions recommandées sont de 60 °C et de 1 heure pour atteindre l'équilibre.

Chromatographier sur colonne capillaire apolaire (de type copolymère de diphényle-diméthylpolysiloxane) ou faiblement polaire (de type copolymère de cyanopropylphényle-diméthylsiloxane) avec gradient de température (d'environ 30 °C à environ 150 à 200 °C). La détection et quantification par spectrométrie de masse sont conseillées par contrôle des ions sélectionnés. Le détecteur FID peut être utilisé (§ A-10.1) mais avec des limites de détection beaucoup plus hautes (de l'ordre 1 à 2 µg/L). Le chromatogramme obtenu présente généralement l'ordre d'élution indiqué dans le tableau précédent (cf. réactifs).

Remarques

– Lors du prélèvement, du carbonate de potassium peut être ajouté pour diminuer les effets de matrice (CO_2, matières organiques).

– Éviter tout contact avec des plastiques.

– Des solutions étalons de dopage (prêtes à l'emploi) sont disponibles dans le commerce (solutions certifiées).

– D'autres hydrocarbures aromatiques peuvent être chromatographiés dans les mêmes conditions, notamment les chlorobenzènes.

– Plusieurs types de phase stationnaire peuvent être utilisés, comme par exemple DB-5, SPB-5 ou encore DB-1301, DB-624.

– Les hydrocarbures aromatiques monocycliques peuvent être également dosés par la méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique (« purge & trap ») puis chromatographie gazeuse (cf. § A-10.15.2 – Hydrocarbures aromatiques monocycliques)

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 11423-1 (septembre 1997). Qualité de l'eau – Détermination du benzène et de certains dérivés benzéniques – Partie 1 : Méthode par chromatographie gazeuse de l'espace de tête (indice de classement T 90-155).

10.9 Chlorobenzènes

Très utilisés dans l'industrie, les chlorobenzènes sont très peu solubles dans l'eau. Quand ils y sont présents, c'est donc à l'état de traces. Bien que ne figurant pas spécifiquement dans les limites et références de qualité de la réglementation européenne sur les eaux destinées à la consommation (sauf en tant que substances apparentées aux pesticides), l'OMS recommande des valeurs guides pour nombre d'entre eux.

Il n'y a pas de méthode analytique dédiée spécifiquement à ces composés, mais ils peuvent être identifiés et quantifiés précisément par les trois méthodes suivantes, utilisées également pour d'autres micropolluants organiques.

10.9.1 Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide

Se reporter au § A-10.24.1 (Pesticides organochlorés).

> **Remarque**
> Cette méthode ne permet pas de doser le monochlorobenzène et les dichlorobenzènes.

10.9.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique, puis chromatographie gazeuse (Purge & Trap)

Se reporter au § A-10.15.2 (Hydrocarbures aromatiques monocycliques).

> **Remarque**
> Cette méthode ne permet pas de doser les polychlorobenzènes à plus de trois atomes de chlore.

10.9.3 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« headspace »)

Se reporter au § A-10.17.1 (Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils).

> **Remarque**
> Bien que non précisé dans la méthode référencée ci-dessus, le monochlorobenzène et dichlorobenzène peuvent être mesurés.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 6468 (février 1997). Qualité de l'eau – Dosage de certains insecticides organochlorés, des polychlorobiphényles et des chlorobenzènes (indice de classement T 90-120).

AFNOR NF EN ISO 15680 (janvier 2004). Qualité de l'eau – Dosage d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques monocycliques, du naphtalène et de divers composés chlorés par dégazage, piégeage et désorption thermique (indice de classement T 90-129).

AFNOR NF EN ISO 10301 (juillet 1997). Qualité des eaux – Dosage des hydrocarbures halogénés hautement volatils – Méthode par chromatographie gazeuse (indice de classement T 90-125).

10.10 Chlorure de vinyle (limite de qualité « Eau potable »)

Le chlorure de vinyle ou monochloroéthylène est le monomère du chlorure de polyvinyle (PVC). C'est donc par lixiviation des tuyauteries qu'il peut se trouver dans les eaux, notamment dans l'eau potable. C'est une limite de qualité pour les eaux de consommation (0,5 μg/L).

10.10.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« Head Space ») ou après extraction liquide-liquide

Se reporter au § A-10.17.1 (Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils).

Le chlorure de vinyle ou chloroéthylène est mesurable par cette technique avec une limite de détection de 0,1 à 0,2 μg/L. Certaines sociétés commercialisent un système compact (« Head Space » statique) avec enrichissement.

10.10.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (« Purge & Trap »)

Se reporter au § A-10.15.2 (Hydrocarbures aromatiques monocycliques).

10.11 Complexants

Utilisés comme complexants des métaux ou des alcalino-terreux dans les générateurs de vapeur, dans l'industrie nucléaire, dans le traitement de surfaces métalliques dans les industries diverses, ces composés sont également des substituts aux phosphates pour augmenter les performances des détergents. Six complexants (dont NTA) sont dosables par une méthode chromatographique à des teneurs minimales de l'ordre de 0,5 μg/L. L'acide nitriloacétique (ou nitriloacétate de sodium) peut être dosé par une méthode spectrométrique d'absorption moléculaire à des concentrations supérieures à 0,5 mg/L.

10.11.1 Dosage du NTA par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

En milieu tamponné (*p*H 9,2) le zinc forme avec le 2-carboxy-2 hydroxy-5-sulfoformazylbenzène un complexe coloré bleu qui est détruit par le nitrilotriacétate de sodium (NTA).

□ Réactifs

– Solution d'hydroxyde de sodium 6 *N* :

hydroxyde de sodium		120 g
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

– Solution tampon (*p*H 9,2) :

acide borique	31 g

chlorure de potassium		37 g
eau déionisée	*q.s.p.*	800 mL
solution d'hydroxyde de sodium 6 *N*	*q.s.p.*	*p*H 9,2
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'acide chlorhydrique 2 *N* :

acide chlorhydrique (*d* = 1,19)		83 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

– Solution de zinc :

sulfate de zinc ($Zn\ SO_4$, 7 H_2O)		0,44 g
solution d'acide chlorhydrique 2 *N*		100 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'hydroxyde de sodium *N* :

Dissoudre 4 g d'hydroxyde de sodium dans un peu d'eau permutée et compléter à 100 mL.

– Solution mixte de zinc et de zincon :

zincon (2-carboxy-2-hydroxy-5-sulfoformazylbenzène)	0,13 g
solution d'hydroxyde de sodium *N*	2 mL
solution tampon à *p*H 9,2	300 mL

Ajouter tout en remuant 15 mL de solution de zinc et compléter à 1 litre avec de l'eau permutée.

– Résine échangeuse d'ions DOWEX 50 W × 8, 50-100 mesh sous forme Na^+.

– Solution mère étalon de NTA à 1 g/L :

NTA [N $(CH_2COONa)_3$, H_2O]		1,07 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon de NTA à 100 mg/L.

Diluer au 1/10 la solution mère étalon extemporanément.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer, à partir de la solution fille, des dilutions couvrant la gamme de concentrations souhaitées (max. : 10 mg/L).

Mode opératoire

Introduire 40 mL d'eau dans une fiole conique de 200 mL et ajouter 4 g de résine. Agiter pendant 15 minutes. Filtrer pour séparer la résine. Introduire 15 mL de filtrat dans un bécher de 50 mL. Ajouter 25 mL de solution de zinc et de zincon. Effectuer la lecture à 620 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Remarques

– La sensibilité de la méthode est de 0,5 mg/L.

– Le NTA étant biodégradable, les mesures doivent être effectuées aussi rapidement que possible.

– Certains éléments : calcium, magnésium, manganèse, cuivre, fer, zinc, donnent des complexes avec le NTA et conduisent à des erreurs par défaut, d'où la nécessité d'un traitement par les résines échangeuses d'ions.

– Cette méthode ne s'applique pas aux eaux saumâtres.

10.11.2 Méthode par chromatographie gazeuse

■ Principe

Après évaporation à sec de l'échantillon selon une procédure particulière (cf. ci-dessous), il est procédé à une estérification et à un traitement du résidu sec (cf. ci-dessous), l'extrait dans l'hexane est chromatographié en phase gazeuse et les polyacétates sont détectés et quantifiés (détecteur NPD ou spectrométrie de masse). Les complexants pouvant être dosés sont regroupés dans le tableau ci-dessous (Réactifs), incluant les complexes, sauf ceux du bismuth pour lesquels il peut y avoir des erreurs par défaut.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons en verre ou en plastique contenant 10 mL de solution de formaldéhyde par litre d'échantillon. Dans ces conditions les échantillons peuvent être conservés pendant un mois, à 4 °C à l'obscurité.

☐ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite, rincée avec la solution d'hydroxyde de sodium ;
– Flacons à usage unique, de 3 et 12 mL, avec septum en PTFE ;
– Matériel courant de laboratoire ;
– Banc chauffant ;
– Étuve ;
– Évaporateur rotatif avec bain thermostaté (facultatif) ;
– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur NPD (se reporter au § A-10.1.2) ou couplée à la spectrométrie de masse (se reporter au § A-10.1.3) ;
– Microseringues.

☐ Réactifs

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;
– Eau ultra-pure ou déionisée ;
– Azote de haute pureté ;
– Réactif d'estérification :

alcool (n-propanol ou iso-propanol ou n-butanol)		90 mL
chlorure d'acétyle		10 mL

– Solution de formaldéhyde :

Solution aqueuse	37 % (v/v)

– N-Hexane ;
– Sulfate de sodium anhydre ;
– Solution d'hydroxyde de sodium 1 M ;
– Solution d'acide chlorhydrique 5 M ;
– Étalons externes (composé de référence) et interne ;
– Solution mère étalon à 1 g/L :

Chaque complexant (étalons)		100 mg
Solution d'hydroxyde de sodium		2 mL
Eau ultra-pure	*q.s.p.*	100 mL

– Solution fille étalon à 10 et 1 mg/L.

Complexants dosables et limites de détection par CG

Complexants	Formule brute (N° CAS)	Ordre d'élution(****)	Limite de détection	Principaux fragments en SM (m/z)	
				Ester de propyle	Ester de n-butyle
EDTA (acide éthylènedinitrilotétraacétique)	$C_{10}H_{16}O_8N_2$ (60-00-4)	4	0,2 µg/L	**460**, 373, 230(*), 146(**)	**516**, 415, 258(*), 158
NTA (acide nitrilotriacétique)	$C_9H_9O_6N$ (139-13-9)	1	0,2 µg/L	**317**, 230(*), 146	**359**, 258(*), 158
DTPA (acide diéthylènetrinitrilopentaacétique)	$C_{14}H_{23}O_{10}N_3$ (67-43-6)	7	0,2 µg/L	**673**, 373(*), 244, 516(***)	**743**, 415(*), 272, 158
MGDA (acide méthylglyacinediacétique)	$C_7H_{11}O_6N$ (29578-05-0)	1	0,2 µg/L	**331**, 244(*), 160	**373**, 272(*), 216
β–ADA (acide β– alaninediacétique)	$C_7H_{11}O_6N$ (6245-75-6)	3	0,2 µg/L	**331**, 244(*), 230(**), 160	**373**, 272(*), 258
1,3-PDTA (acide 1,3- propylènedinitrilotétraacétique)	$C_{11}H_{18}O_8N_2$ (1939-36-2)	5	0,2 µg/L	**474**, 230, 144(*)	**530**, 184, 158(*)
1,2-PDTA (acide 1,2- propylènedinitrilotétraacétique) (*****)	$C_{11}H_{18}O_8N_2$	6	–	**474**, 387(**), 244(*), 216(***), 160	**530**, 429, 272(*)

(*) fragment le plus important (**) pour ester de n-propyle (***) pour ester de iso-propyle (****) sur colonne apolaire de type diméthylsiloxane (*****) Étalon interne

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer juste avant utilisation, à partir de la solution fille utile, des dilutions dans l'eau ultra-pure (acidifiée avec 2 mL de solution d'acide chlorhydrique 5M) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (min. 0,5 μg/L, max : 100 μg/L).

Mode opératoire

Le mode opératoire inclut plusieurs phases qu'il faut faire subir aux échantillons inconnus et aux étalons (évaporation, dérivation chimique, chromatographie).

Évaporation

Ajouter à l'échantillon et aux étalons externes une quantité identique d'étalon interne (1,2-PDTA) de manière à obtenir une concentration de l'ordre de grandeur de celles recherchées. Évaporer 100 mL de chaque échantillon jusqu'à siccité, dans l'étuve, puis dissoudre dans 10 mL d'acide chlorhydrique 1M et transférer la totalité dans un flacon à usage unique de 12 mL. Évaporer à sec sous flux d'azote.

Dérivation chimique (estérification)

Ajouter au résidu sec (dans le flacon de 12 mL), 2 mL du réactif d'estérification. Boucher la fiole et chauffer à 90 °C pendant 3 heures (quand l'alcool utilisé est le propanol) ou 30 à 60 minutes (butanol). Après refroidissement ajouter 1 mL d'hexane, agiter et ajouter 1 mL de solution d'hydroxyde de sodium. Transférer le contenu dans une fiole jaugée de 50 mL, rincer plusieurs fois le flacon à usage unique avec de l'eau ultra-pure. Récupérer les eaux de rinçage dans la fiole de 50 mL et compléter avec l'eau ultra-pure. Agiter, laisser décanter et récupérer la phase hexane pour la transférer dans un flacon à usage unique de 3 mL. Ajouter 0,5 g de sulfate de sodium anhydre, agiter une dizaine de minutes.

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne capillaire apolaire de type diméthylpolysiloxane (§ A-10.1.2) et un gradient de température (d'environ 150 °C à environ 250 °C). La détection et quantification par spectrométrie de masse sont conseillées (cf. réactifs) mais le détecteur NPD peut être utilisé (§ A-10.1).

Remarques

– Pour les eaux saumâtres ou de mer (NaCl > 2 g/L), l'évaporation à sec peut être délicate. Il faut donc diluer l'échantillon

– Une concentration élevée en ion calcium (> 200 mg/L) peut fausser le dosage de l'EDTA.

– Attention à l'utilisation de détergents pour le nettoyage de la verrerie

– Pour les échantillons contenant plus de 20 mg/L de COD (cf. § A-9.4), partir d'un volume initial d'échantillon plus faible que 100 mL et de façon à ce que la masse totale de COD soit inférieure à 2 mg

– L'étalonnage interne peut être effectué à l'aide des composés de référence marqués au ^{13}C (disponible dans le commerce)

– L'extrait final (dans l'hexane) peut être conservé à 4 °C pendant quinze jours.

– Plusieurs types de phase stationnaire peuvent être utilisés, comme par exemple DB-1, CPSil-5, OV-1, SE-30

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 16588 (juillet 2004). Qualité de l'eau – Dosage de six agents complexants – Méthode par chromatographie gazeuse (indice de classement T 90-122).

10.12 (1,2) – Dichloroéthane (limite de qualité « Eau potable »)

Le dichloroéthane est un composé de la famille des composés organohalogénés volatils. C'est un intermédiaire de synthèse du chlorure de vinyle. Il est également utilisé dans la production des solvants chlorés. De par sa présence potentielle dans les eaux et sa toxicité, ce composé fait partie des limites de qualité pour les eaux destinées à la consommation humaine (concentration maximum de 3 µg/L). Il peut être dosé dans les eaux par les méthodes utilisées pour les hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils (espace de tête ou extraction liquide-liquide) avec une limite détection par spectromètre de masse de 0,15 µg/L en détection. Il peut être également dosé par la méthode dite « purge & trap », avec beaucoup d'autres composés, avec une limite de détection identique en spectrométrie de masse.

10.12.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide

Se reporter au § A-10.17.1 (Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils).

10.12.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (« purge & trap »)

Se reporter au § A-10.15.2 (Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils).

10.13 Dioxines

Les polychlorodibenzodioxines et les polychlorodibenzofuranes identifiés, plus de 200 au total, sont regroupés sous le terme « dioxines ». En fait une vingtaine d'entre eux sont habituellement mesurés compte tenu de leur toxicité (ceux substitués au moins en position 2, 3, 7 et 8). Ces composés sont très stables dans l'environnement. Leur dosage est très compliqué (et coûteux). Ils sont généralement concentrés par extraction liquide-liquide au dichlorométhane. L'extrait est ensuite purifié par adsorption (Fluorisil par exemple) et analysé par chromatographique gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution.

Les limites détection sont extrêmement basses et peuvent atteindre quelques picogrammes à quelques dizaines de picogrammes par litre.

Méthode de référence

ISO/FDIS 17858 (décembre 2006). Qualité de l'eau : Dosage des biphényls polychlorés de type dioxine – Méthode par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

10.14 Epichlorhydrine (limite de qualité « Eau potable »)

L'épichlorhydrine ou 1-chloro, 2,3-époxypropane (C_3H_5ClO, n° CAS : 106-89-8) est un composé chimique qui sert d'intermédiaire dans la production de nombreux produits chimiques, notamment les résines époxydiques utilisées dans certains matériaux de réseaux de distribution, résines échangeuses d'anions et agents de floculation. Sa présence dans l'eau provient en général de sa migration (en tant que monomère) depuis les matériaux au contact de l'eau. C'est une limite de qualité pour les eaux destinées à la consommation humaine (0,1 µg/L). La méthode de dosage utilisée repose sur la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse avec une limite de détection qui atteint difficilement la valeur de 0,1 µg/L.

■ Principe

Après extraction par une phase solide (SPE), l'épichlorhydrine est chromatographiée en phase gazeuse, puis détectée et quantifiée par spectrométrie de masse.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons en verre brun. Traiter et analyser l'échantillon dès que possible. Réduire la concentration résiduelle de chlore si nécessaire, en introduisant quelques mg/L de thiosulfate de sodium ou autre réducteur.

□ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons à usage unique, avec septum en PTFE ;

– Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (cf. § A-10.1.2).

□ Réactifs

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure ou déionisée ;

– Cartouches pour extraction sur phase solide en copolymère de styrène-divinylbenzène (cf. § A-10.1.1) ;

– Azote de haute pureté ;

– Ether isopropylique ;

– Solution mère étalon externe à 500 mg/L :

Epichlorhydrine (C_3H_5ClO)		50 mg
Ether isopropylique	*q.s.p.*	100 mL

– Solution mère d'étalon interne :

2-chloropropionate d'éthyle ($C_5H_9ClO_2$)		50 mg
Ether isopropylique	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions de dopage pour étalonnage externe, entre 1 mg/L et 10 mg/L d'épichlorhydrine, à préparer à partir de la solution mère par dilution dans l'éther isopropylique (par exemple 1 – 3 – 5 – 7,5 et 10 mg/L) ;

– Solution de dopage pour étalonnage interne, autour de 5 à 10 mg/L de 2-chloropropionate d'éthyle, à préparer à partir de la solution mère par dilution dans l'éther isopropylique.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer juste avant utilisation, une gamme étalon en injectant 10 µL de chaque solution de dopage dans 100 mL d'eau ultra-pure. Les étalons externes ainsi obtenus présentent des concentrations comprises entre 0,1 et 1 µg/L.

Mode opératoire

Dans chaque échantillon (et étalon externe), il est ajouté une même quantité d'étalon interne en procédant de la même façon que pour la courbe d'étalonnage (10 µL d'une solution de dopage.

Le mode opératoire suivant inclut plusieurs phases qu'il faut faire subir aux échantillons inconnus et aux étalons.

Extraction sur phase solide (SPE)

Appliquer le protocole général décrit au § A-10.1.1 pour des cartouches comportant 200 mg de masse d'adsorbant (de type copolymère polystyrène-divinylbenzène) en respectant un protocole rigoureusement identique pour chaque échantillon.

Filtrer successivement 5 ml d'éther isopropylique, 5 ml de méthanol et 5 ml d'eau ultra-pure en laissant la cartouche s'égoutter après chaque passage, sans l'assécher. Immédiatement après, effectuer la concentration par filtration de 100 mL (maximum) d'échantillon, à un débit constant compris entre 1 et 3 mL/min. Entre et pendant chaque opération, on prendra soin de laisser le matériau adsorbant toujours immergé (sans bulle d'air). Purger la cartouche de son eau par un léger flux d'azote (2 mL/min pendant quelques minutes) en laissant quelques traces d'eau résiduelle, pour éviter toute perte d'épichlorhydrine. Effectuer l'élution en ajoutant 2 mL d'éther isopropylique laissés au contact du matériau adsorbant pendant une dizaine de minutes, puis recueillir dans un flacon à usage unique.

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne capillaire apolaire de type diméthylpolysiloxane (DB-1, CPSil-5, SE-30) ou copolymère de diphényle-diméthylpolysiloxane (DB-5) en condition isotherme (30 °C). L'épichlorhydrine est le premier composé élué parfaitement séparé de l'étalon interne. La détection et la quantification de l'épichlorhydrine par spectrométrie de masse sont faites sur les fragments m/z 49 et 51.

Remarques

– La solution étalon mère d'épichlorhydrine se conserve bien au réfrigérateur (~ 6 mois).

– Utiliser des cartouches adsorbantes provenant d'un même lot.

– Pour les eaux saumâtres ou de mer (NaCl > 2 g/L), l'évaporation à sec peut être délicate. Il faut donc diluer l'échantillon.

– L'étalonnage interne peut être effectué à l'aide de l'épichlorhydrine ^{13}C (disponible dans le commerce).

Méthode de référence

AFNOR NF EN 14207 (août 2003). Qualité de l'eau – Dosage de l'épichlorhydrine (indice de classement T 90-152).

10.15 Hydrocarbures aromatiques monocycliques

Cette méthode permet de doser le benzène (cf. § A-10.6) et autres composés aromatiques monocycliques, dont le méthylbenzène ou toluène, les trois diméthylbenzènes ou xylènes et l'éthylbenzène. L'ensemble de ces composés représente le paramètre B.T.E.X. (cf. § A-10.8) utilisé dans l'évaluation de la qualité des eaux usées et des eaux naturelles.

La méthode la plus communément utilisée pour doser les BTEX est la chromatographie de l'espace de tête avec une limite de détection d'environ 0,1 μg/L pour chaque constituant (cf. § A-10.8). Une méthode un peu plus sensible et couvrant un nombre plus important d'hydrocarbures aromatiques monocycliques (et autres composés volatils) consiste à dégazer, piéger puis désorber thermiquement dans un système de chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

10.15.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« headspace »)

Se reporter au § A-10.8.

10.15.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (purge & trap)

Cette méthode permet de doser de nombreux haloalcanes (≥ 25), dont le 1-2-dichloroéthane, haloalcènes (≥ 10), dont le chlorure de vinyle, et de nombreux hydrocarbures aromatiques monocycliques halogénés ou alkylés (≥ 24) et le naphtalène.

■ Principe

Après dégazage, les composés volatils sont adsorbés. Le piège adsorbant est ensuite chauffé pour désorber les composés qui sont transférés (en ligne ou hors ligne) dans une chromatographie gazeuse munie d'un détec-

teur à capture d'électrons (ECD). Si tous les composés désorbés et piégés doivent être dosés, la chromatographie doit être couplée à un spectromètre de masse.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons en verre avec septum en PTFE. Ces flacons doivent être remplis complètement en évitant tout résiduel d'air ou en plastique contenant 10 mL de solution de formaldéhyde par litre d'échantillon. Dans ces conditions les échantillons peuvent être conservés pendant une semaine, à 4 °C.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en verre avec septum en PTFE ;

– Microseringues ;

– Appareillage de dégazage, piégeage et désorption thermique disponible dans le commerce ou de type « CLSA » (se reporter au § A.10.1.1) ;

– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur ECD (se reporter au § A-10.1.2) ou couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure ou déionisée ;

– Hélium ou azote de haute pureté (pour dégazage) ;

– Méthanol ;

– Étalons externes et internes ;

– Solution mère étalon de 1,2-dichloroéthane à 200 mg/L :

1,2-Dichloroéthane		20 mg
Méthanol	*q.s.p.*	100 mL

Procéder de la même manière pour chaque étalon externe et/ou étalon interne ;

– Solution étalon de dopage, entre 20 mg/L et 100 mg/L de 1,2-dichloroéthane, à préparer à partir de la solution mère par dilution dans le méthanol.

Procéder de la même manière pour chaque étalon externe et/ou interne

Hydrocarbures aromatiques monocycliques dosables par CG et étalons internes possibles

Composés volatils	Ordre d'élution(*)	Fragments (m/z)	Composés volatils	Ordre d'élution(*)	Fragments (m/z)
Haloalcanes			**Haloalcènes** (suite)		
Bromochlorométhane	13	49-128-130	Hexachlorobutadiène	57	223-225
Bromodichlorométhane	23	83-85-127	Tétrachloroéthylène	28	166-168
Bromométhane	4	94-96	Trichloroéthylène	20	95-130-132
Chloroéthane	5	49	**Hydrocarbures aromatiques(**)**		
Chloroforme	14	83-85	**Benzène**	18	78
Chlorométhane	2	50-52	Bromobenzène	40	77-156-158
Dibromochlorométhane	30	127-129	*n*-Butylbenzène	54	91-92-134
Dibromochloropropane	55	75-155-157	*sec*-Butylbenzène	49	105-134
1,2-Dibromoéthane	31	107-109	*tert*-Butylbenzène	47	91-119-134
Dibromométhane	22	93-95-174	Chlorobenzène	32	77-112-114
Dichlorodifluorométhane	1	85-87	2-Chlorotoluène	44	91-126
1,1-Dichloroéthane	10	63-65-83	4-Chlorotoluène	45	91-126
1,2-Dichloroéthane	19	62-98	1,2-Dichlorobenzène	53	111-146
Dichlorométhane	8	49-84-86	1,3-Dichlorobenzène	50	111-146
2,2-Dichloropropane	11	77-97	1,4-Dichlorobenzène	51	111-146
1,2-Dichloropropane	21	63-112	Ethylbenzène	34	91-106
1,3-Dichloropropane	29	76-78	*iso*-Propylbenzène	39	105-120
1,1,1,2-Tétrachloroéthane	33	83-85-131	*n*-Propylbenzène	43	91-120
1,1,2,2-Tétrachloroéthane	41	85-86-131	4-*iso*-Propyltoluène	52	91-119-134
Tétrachlorométhane	16	117-119	Styrène	37	78-104
Tribromométhane	38	173-175	Toluène	25	91-92
1,1,1-Trichloroéthane	15	61-96-99	1,2,3-Trichlorobenzène	59	180-182
1,1,2-Trichloroéthane	27	83-85-97	1,2,4-Trichlorobenzène	56	180-182
Trichlorofluorométhane	6	101-103	1,3,5-Trichlorobenzène	60	180-182
1,2,3-Trichloropropane	42	75-77	1,2,4-Triméthylbenzène	48	105-120
Haloalcènes			1,3,5-Triméthylbenzène	46	105-120
Chlorure de vinyle	3	62-64	*m et p*-Xylène	35	91-106
1,1-Dichloroéthylène	7	61-63-96	*o*-Xylène	36	91-106
c-1,2-Dichloroéthylène	12	61-96-98	**Étalons internes possibles**		
t-1,2-Dichloroéthylène	9	61-96-98	Fluorobenzène	~19 à 20	96
1,1-Dichloropropylène	17	75-77-110	Chlorobenzène-d_5	~39 à 40	117
c-1,3-Dichloropropylène	26	75-110	2-chloroethylvinylether	~38	–
t-1,3-Dichloropropylène	24	75-110	1,2-dichlorobenzène-d_4	~49 à 50	115-117
			Tétrachlorure de carbone	~25	–

(*) Ordre d'élution sur colonne capillaire de type DB624, gaz vecteur He.
(**) Hydrocarbures aromatiques monocycliques, certains HAP (dont Naphatalène) peuvent être également dosés.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer juste avant utilisation, à partir d'un volume (calculé en μL) de solutions de dopage, des dilutions dans l'eau ultra-pure (q.s.p. 100 mL) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (par exemple de 1 μg/L à 10 μg/L).

Mode opératoire

Dégazage et piégeage

Se reporter aux instructions du fabricant du système « purge & trap » ou « CLSA ».

Ajouter une quantité identique d'étalon interne à chaque échantillon et chaque étalon, en procédant comme pour la gamme étalon, à partir d'une solution de dopage. Traiter le blanc de la même manière. Procéder au dégazage et au piégeage sur adsorbant, en utilisant un volume de gaz environ 10 fois supérieure au volume de l'échantillon. Le système de dégazage peut être chauffé et le système de piégeage refroidi dans un piège à froid (en prenant soin de faire des essais préalables pour déterminer les conditions optimales).

Dosage chromatographique

Désorber thermiquement en quelques minutes à environ 250 °C sous débit d'hélium (ou d'azote) et chromatographier sur colonne capillaire de faible polarité (de type copolymère de cyanopropylphényle-diméthylsiloxane) avec gradient de température (d'environ 35 °C à environ 240 °C). La détection et quantification idéales sont réalisées par spectrométrie de type piège d'ions en mode balayage complet ou contrôle des ions sélectionnés (cf. réactifs). Le détecteur ECD peut être utilisé. Le chromatogramme obtenu présente généralement l'ordre d'élution indiqué dans le tableau précédent.

Remarques

– Les composés hautement volatils peuvent subir une évaporation pendant l'échantillonnage et le transport.

– L'atmosphère du laboratoire et les gaz utilisés peuvent souiller les échantillons.

– Certains composés peuvent se dégrader thermiquement pendant la désorption thermique.

– En cas de non utilisation d'un appareil conçu pour ce type de préparation d'échantillon, des systèmes de dégazage sont disponibles dans le commerce et le piégeage peut être effectué dans une colonne d'adsorption garnie d'un adsorbant à base de silice (Tenax, Porapak, Chromosorb,…).

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 11423-1 (septembre 1997). Qualité de l'eau – Détermination du benzène et de certains dérivés benzéniques – Partie 1 : Méthode par chromatographie gazeuse de l'espace de tête (indice de classement T 90-155).

AFNOR NF EN ISO 15680 (janvier 2004). Qualité de l'eau – Dosage d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques monocycliques, du naphtalène et de divers composés chlorés par dégazage, piégeage et désorption thermique (indice de classement T 90-129).

10.16 Hydrocarbures aromatiques polycycliques (limite de qualité « Eau potable »)

L'action potentiellement néfaste sur la santé des hydrocarbures polycycliques aromatiques est bien admise. Ils proviennent en grande partie de la pyrolyse des hydrocarbures ou de leur combustion. Le benzo (a) pyrène est une limite de qualité des eaux de consommation humaine (< 0,01 μg/L), ainsi que la somme de quatre autres HAP (Benzo (b) fluoranthène, Benzo (k) fluoranthène, Benzo (ghi) pérylène, Indéno (1,2,3-cd) pyrène) (< 0,1 μg/L).

10.16.1 Dosage des HAP par extraction puis par chromatographie liquide avec détection par fluorescence

La méthode par chromatographie liquide (CLHP) couplée à une détection fluorimétrique permet d'identifier et de quantifier 15 HAP sélectionnés.

■ Principe

Les HAP sont extraits par un solvant non polaire (généralement l'hexane), concentrés puis dosés par chromatographie liquide.

Prélèvements

Prélever 500 mL à 1 L d'échantillon dans un flacon à verre brun contenant 10 à 25 mL d'hexane. Conserver le flacon à l'obscurité à 4 °C et effectuer le dosage dans un délai ne dépassant pas une semaine.

□ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite Après lavage avec un détergent, la rincer soigneusement à l'eau déionisée puis à l'hexane ou à l'acétone ;

– Flacons de concentration en verre (disponibles dans le commerce) ;

– Ampoules à décanter ;

– Flacons à usage unique, avec septum en PTFE ;

– Micro-seringues ;

– Évaporateur rotatif ;

– Chromatographe CLHP équipé d'un détecteur spectrofluorimétrique (se reporter au § A-10.1.2) capable de programmer au moins les 6 paires de longueurs d'onde indiquées dans le tableau ci-dessous (réactifs).

□ Réactifs

– Tous les solvants utilisés doivent être de qualité pour spectroscopie de fluorescence, l'eau de qualité ultra-pure et l'azote de haute qualité ;

– Hexane ;

– Acétone ;

– N, N-diméthylformaldéhyde ;

– Méthanol ou Acétonitrile ;

– Sulfate de sodium lavé à l'hexane et séché à 110 °C ou purifié à 500 °C ;

– Solution étalon (composés de référence) :

Préparer à partir de chacun des quinze HAP des solutions d'une concentration de 1 g/L dans le méthanol ou l'acétonitrile. Un traitement en bac à ultrasons est conseillé. Conserver à une température de 4 °C (conservation limitée à 6 mois).

HAP dosables par HPLC et limites de détection

Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Formule brute (N° CAS)	Ordre d'élution(*)	Limite de détection	Longueurs d'onde de détection	
				λ excitation	λ émission
Acénaphtène	$C_{12}H_{10}$ (83-32-9)	2[b]	–	275	350
Anthracène	$C_{14}H_{10}$ (120-12-7)	5	–	260	420
Benzo (a) anthracène	$C_{18}H_{12}$ (56-55-3)	8	–	260	420
Benzo (b) fluoranthène	$C_{20}H_{12}$ (205-99-2)	10	1,5 ng/L	290	430
Benzo (k) fluoranthène	$C_{20}H_{12}$ (207-08-9)	11	1,5 ng/L	290	430
Benzo (ghi) pérylène	$C_{22}H_{12}$ (191-24-2)	14(**)	3 ng/L	290	430
Benzo (a) pyrène	$C_{20}H_{12}$ (50-32-8)	12	1,5 ng/L	290	430
Chrysène	$C_{18}H_{12}$ (218-01-9)	9	–	260	420
Dibenzo (a, h) anthracène	$C_{22}H_{14}$ (053-70-3)	13(**)	–	290	430
Fluoranthène	$C_{16}H_{10}$ (206-44-0)	6	1,5 ng/L	270	440
Fluorène	$C_{13}H_{10}$ (86-73-7)	3[b]	–	275	350
Indéno (1,2,3-cd) pyrène	$C_{22}H_{12}$ (193-39-5)	15	3 ng/L	250	500
Naphtalène	$C_{10}H_8$ (91-20-3)	1	–	275	350
Phénanthrène	$C_{14}H_{10}$ (85-01-8)	4	–	275	350
Pyrène	$C_{16}H_{10}$ (129-00-0)	7	–	270	440

(*) Ordre d'élution sur colonne de type C-18 (acétonitrile/eau).
(**) Les pics 2 et 3 ou 14 et 15 peuvent être mal résolus.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Effecteur plusieurs solutions d'étalonnage (3 à 5 composés de référence par solutions) par dilutions de la solution étalon dans l'acétonitrile ou le méthanol (selon la phase mobile utilisée en CLHP). On utilisera des flacons de 10 à 12 mL à usage unique sertis et les microseringues (conservation des étalons 6 mois).

Mode opératoire

Préparation de l'échantillon

Homogénéiser l'échantillon et l'introduire dans une ampoule à décanter. Rincer soigneusement le flacon de prélèvement avec de l'hexane (environ 25 mL) et récupérer l'hexane de rinçage dans l'ampoule à décanter. Agiter vigoureusement pendant 3 minutes et laisser décanter au moins 5 minutes. Après décantation, récupérer la phase aqueuse dans le flacon de prélèvement et la phase organique dans le ballon de l'évaporateur rotatif. Procéder à une nouvelle extraction dans les mêmes conditions et joindre

le deuxième extrait au premier. Déshydrater l'extrait par 1 à 5 g de sulfate de sodium anhydre pendant 30 minutes au minimum. Décanter et récupérer la phase organique puis rincer deux fois avec quelques mL d'hexane. Concentrer à 10 mL à l'évaporateur rotatif sous vide à une température inférieure à 40-50 °C.

À ce niveau, deux protocoles peuvent être utilisés selon que le choix de la technique de dosage chromatographique. Dans le cas d'un dosage par chromatographie gazeuse, se reporter au § A-10.16.2.

Dans le cas d'un dosage par chromatographie liquide, achever l'évaporation (sans toutefois atteindre la siccité) sous courant d'azote de haute pureté. Afin d'éliminer les traces d'hexane, ajouter 250 μL de diméthylformaldéhyde et 500 μl d'acétone et traiter sous flux d'azote jusqu'à environ 200 μL. Reprendre le résidu par du méthanol ou de l'acétonitrile (solvant de la phase mobile) jusqu'à un volume (par exemple) de 1 mL.

CHROMATOGRAPHIE CLHP

Chromatographier en CLHP mode inverse avec une colonne dont la phase stationnaire est de type C-18 et une phase mobile acétonitrile ou méthanol/eau avec en mode gradient d'élution (cf. § A-10.1.2) pour le dosage des quinze HAP. Le programme d'élution acétonitrile/eau est généralement initié avec un mélange 50/50 ou 60/40 et est linéaire pendant 30 à 40 minutes jusqu'à 100/0. La détection et la quantification par spectrométrie de fluorescence est réalisée aux longueurs d'onde conseillées ci-dessus (cf. réactifs).

Remarques

– Cette méthode permet de doser des concentrations de 10 à 50 ng/L de chaque HAP. Certains appareils peuvent permettre d'obtenir des concentrations plus basses.

– Il existe dans le commerce des solutions étalons prêtes à l'emploi.

– Le solvant d'élution est choisi en fonction de la phase stationnaire pour obtenir la séparation optimale des six hydrocarbures polycycliques aromatiques. L'acétonitrile et le méthanol sont satisfaisants.

– Éviter de procéder à l'extraction des hydrocarbures polycycliques aromatiques en lumière trop vive étant donné leur sensibilité à la lumière.

– En présence de quantités importantes de matières en suspension, procéder au moins à trois extractions. Si la teneur en matières en suspension est supérieure à 200 mg/L, filtrer l'échantillon et extraire les hydrocarbures polycycliques aromatiques sur l'eau filtrée et les matières en suspension.

– En cas d'émulsion lors de l'extraction par l'hexane, procéder à une centrifugation

– Évaporer à sec l'extrait dans l'hexane présente le risque de perte quelques HAP

– Une purification de l'extrait final est parfois nécessaire. Des cartouches conçues à cet effet sont disponibles dans le commerce (cf. § A-10.1.1)

– En cas de difficultés d'interprétation des chromatogrammes dues à la présence de composés ayant des propriétés chromatographiques proches des six hydrocarbures polycycliques aromatiques recherchés, il est nécessaire de procéder à une purification de l'extrait sur alumine, en particulier pour les eaux brutes. Dans ce cas, procéder comme suit.

Préparation de l'alumine : elle consiste en une activation, une désactivation et une mise en colonne.

Pour l'activation, chauffer de l'oxyde d'aluminium basique de granulométrie 100 µm à 550 °C pendant deux heures au moins. Le laisser refroidir dans le four jusqu'à 200 °C puis le conserver en flacon bouché.

Pour la désactivation, prélever dans un flacon la quantité d'alumine nécessaire à l'analyse, ajouter 6 % en poids d'eau en agitant. Boucher le flacon, agiter jusqu'à homogénéisation puis attendre 24 h pour l'utilisation.

Remplissage de la colonne : utiliser une colonne de 200 mm de longueur et de 6 mm de diamètre intérieur, munie à la base d'un robinet à boisseau en polytétrafluoréthylène. Tasser à la base de la colonne un tampon en laine de verre préalablement lavé au cyclohexane et séché. Introduire de l'alumine sur une hauteur de 5 cm environ, soit approximativement 1,5 g, en tapotant légèrement la colonne puis du sulfate de sodium sur une hauteur de 0,5 cm. Rincer la colonne avec environ 2 mL de cyclohexane. Lorsque le solvant affleure la surface du sulfate de sodium, fermer le robinet.

Pour la purification de l'extrait, déposer l'extrait concentré sur le sulfate de sodium avec une pipette. Rincer le ballon utilisé pour la concentration avec quelques dixièmes de millilitres de cyclohexane, les transférer dans la colonne. Ouvrir le robinet pour que l'extrait pénètre dans le sulfate de sodium, le fermer. Recueillir environ 20 mL d'éluat qui sera concentré comme décrit dans le mode opératoire, puis chromatographier.

– Il est indispensable de contrôler fréquemment l'efficacité de l'alumine en suivant sous lumière ultraviolette (360 nm) la migration de la bande fluorescente bleue d'un étalon d'hydrocarbure polycyclique aromatique. Le volume de l'éluat à utiliser est déterminé par ce test.

10.16.2 Dosage des HAP par extraction liquide-liquide puis par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La méthode de dosage par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une variante de la méthode précédente.

■ Mode opératoire

Préparation de l'échantillon

En partant de l'extrait dans l'hexane obtenu par la méthode décrite ci-dessus (cf. Préparation de l'échantillon), une autre méthode consiste à évaporer à l'évaporateur rotatif sous vide (à maximum 50 °C) jusqu'à environ 2 à 5 ml. Transférer le résidu et l'hexane de rinçage dans un flacon à usage unique (avec bouchon ou septum en PTFE), ajouter éventuellement un étalon interne (HAP deutéré par exemple) et poursuivre l'évaporation sous courant d'azote jusqu'à 1 mL.

Chromatographie gazeuse

Chromatographier sur colonne capillaire de polarité intermédiaire (de type OV-1701 ou OV-17) faible polarité avec gradient de température (d'environ 50 °C à environ 180 °C). La détection et quantification idéales sont réalisées par spectrométrie de type piège d'ions en mode balayage complet ou contrôle des ions sélectionnés (cf. tableau ci-dessous). Le chromatogramme obtenu présente généralement l'ordre d'élution indiqué dans le tableau ci-dessous.

HAP dosables par CG/SM et fragments caractéristiques

Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Formule brute (N° CAS)	Ordre d'élution(*)	Fragments caractéristiques
Acénaphtène	$C_{12}H_{10}$ (83-32-9)	3	154, 153, 76
Acénaphtylène	$C_{12}H_{8}$ (208-96-8)	2	152, 161, 76
Anthracène	$C_{14}H_{10}$ (120-12-7)	6	178, 176, 152
Benzo (a) anthracène	$C_{18}H_{12}$ (56-55-3)	8	228, 226, 114
Benzo (b) fluoranthène	$C_{20}H_{12}$ (205-99-2)	10	252, 126, 253
Benzo (k) fluoranthène	$C_{20}H_{12}$ (207-08-9)	11	252, 126, 253
Benzo (ghi) pérylène	$C_{22}H_{12}$ (191-24-2)	15	276, 138, 277
Benzo (a) pyrène	$C_{20}H_{12}$ (50-32-8)	12	252, 126, 113
Chrysène	$C_{18}H_{12}$ (218-01-9)	9	228, 226, 114
Dibenzo (a, h) anthracène	$C_{22}H_{14}$ (053-70-3)	14	278, 139, 279
Fluoranthène	$C_{16}H_{10}$ (206-44-0)	7	202, 200, 101
Fluorène	$C_{13}H_{10}$ (86-73-7)	4	166, 165, 139
Indéno (1,2,3-cd) pyrène	$C_{22}H_{12}$ (193-39-5)	13	276, 138, 277
Naphtalène	$C_{10}H_{8}$ (91-20-3)	1	128, 127, 102
Phénanthrène	$C_{14}H_{10}$ (85-01-8)	5	178, 176, 152
Pyrène	$C_{16}H_{10}$ (129-00-0)	8	202, 200, 101

(*) Ordre d'élution sur colonne de polarité intermédiaire.

Remarque

Cette méthode par chromatographie gazeuse permet également de doser (dans le même chromatogramme) les PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 ainsi que les pesticides organochlorés (cf. § A-10.24.1).

10.16.3 Dosage du naphtalène (seul) par chromatographie gazeuse

Se reporter au § A-10.15.2 (Hydrocarbures aromatiques monocycliques).

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 17993 (juillet 2004). Qualité de l'eau – Dosage de quinze hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans l'eau par HPLC avec détection par fluorescence après extraction liquide-liquide (indice de classement T 90-090).

AFNOR NF EN ISO 15680 (janvier 2004). Qualité de l'eau – Dosage d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques monocycliques, du naphtalène et de divers composés chlorés par dégazage, piégeage et désorption thermique (indice de classement T 90-129).

ISO/DIS 28540 (octobre 2007). Qualité de l'eau – Détermination de 16 hydrocarbures polynucléaires (HAP) dans l'eau – Méthode par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC/MS).

10.17 Hydrocarbures halogénés aliphatiques volatils

Les hydrocarbures halogénés aliphatiques (hautement) volatils correspondent aux hydrocarbures (non aromatiques) chlorés, bromés et éventuellement fluorés ou iodés, avec un à six atomes de carbone dans leur structure aliphatique saturée ou insaturée.

Ces hydrocarbures (principalement solvants chlorés) peuvent être à l'origine de pollutions à caractère rémanent dans les eaux souterraines plus particulièrement. Par ailleurs, certains d'entre eux, les trihalométhanes chlorés, bromés et mixtes (chloroforme, dichlorobromo-méthane, dibromochlorométhane et bromoforme) sont produits au cours des traitements de décontamination microbienne des eaux (eau potable, eaux de piscines, eaux de refroidissement) par action du chlore sur les composés organiques notamment les matières organiques naturelles ou substances humiques (cf. § A-13). Le chlorure de vinyle (cf. § A-10.10) fait également partie de cette classe de composés.

Certains de ces hydrocarbures halogénés, ayant une toxicité élevée et une action cancérigène, ne peuvent être tolérés dans l'eau potable qu'à des faibles concentrations :

– 1-2 dichloroéthane : 3 μg/L,
– somme de tétrachloroéthylène et trichloroéthylène : 10 μg/L,
– somme des THM chlorés, bromés et mixtes : 100 μg/L,
– chlorure de vinyle : 0,5 μg/L.

La méthode la plus communément utilisée est la méthode par espace de tête statique ou par extraction liquide-liquide et analyse par chromatographie gazeuse. La méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (Purge & Trap) permet également de les doser (cf. § A-10.15.2).

10.17.1 Méthode par chromatographie de l'espace de tête (« headspace ») ou après extraction liquide-liquide

■ Principe

Les composés organohalogénés volatils ont un fiable coefficient de partage dans l'eau ; ils sont donc libérés très rapidement sous l'action de la chaleur, de l'agitation ou du balayage par un gaz. Les échantillons doivent donc être prélevés en flacon scellé, quel que soit le mode de prélèvement et la technique analytique choisis. Ils peuvent être aussi extraits dans un solvant de type pentane.

Prélèvements

Pour la méthode par chromatographie de l'espace de tête, effectuer les mêmes prélèvements que pour l'analyse des BTEX (cf. § A-10.8).

Pour la méthode par extraction liquide-liquide, prélever dans des flacons en verre, avec septum en PTFE, qui doivent être remplis complètement (sans espace de tête). Après sertissage, il faut vérifier qu'aucune fuite n'est possible.

En présence de désinfectant libre (dihalogène ou ozone), la production ou la destruction des organo-halogénés peut être stoppée en ajoutant un excès de thiosulfate de sodium (0,1 mL d'une solution à 30 g/L).

Dans ces conditions les flacons peuvent être conservés pendant deux jours, à 4 °C.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en verre avec bouchons en PTFE, de type « pénicilline », à usage unique, capsules et pince à sertir (pour méthode à l'espace de tête) ;

– Flacons de prélèvement d'échantillon en verre avec septum en PTFE d'une capacité de 30 à 40 ml (pour méthode par extraction liquide-liquide) ;

– Fioles en verre d'une capacité de 100 mL à bouchon en verre rodé (pour méthode par extraction liquide-liquide) ;

– Microseringues ;

– Microséparateur éventuel (pour méthode par extraction liquide-liquide) ;

– Appareillage de dégazage muni d'un système de chauffage de type bain-marie. Des appareils existent dans le commerce, montés en ligne sur la chromatographie (se reporter au § A.10.1.1) (pour méthode à l'espace de tête) ;

– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur ECD (cf. § A-10.1.2) ou couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs et en particulier des solvants est impérative ;

– Eau ultra-pure ;

– Thiosulfate de sodium ;

– Pentane (ou hexane) exempt d'hydrocarbures chlorés ;

– Méthanol (ou acétone) exempte d'hydrocarbures chlorés ;

– Étalons externes et interne (cf. tableau ci-dessous) ;

– Solution mère étalon pour méthode par extraction liquide-liquide (conserver 6 mois dans des fioles à bouchon rodé en verre) :

Substances de référence		50 mg
Pentane (ou hexane)	*q.s.p.*	100 mL

– Solution fille étalon à 1 mg/L pour méthode par extraction liquide-liquide, par dilution dans le pentane (conserver 15 jours) ;

– Solution mère étalon pour méthode à l'espace de tête (conserver 6 mois dans des fioles à bouchon rodé en verre) :

Substances de référence		50 mg
Méthanol (ou acétone)	*q.s.p.*	100 mL

– Solution fille étalon à 1 mg/L pour méthode à l'espace de tête, par dilution dans le méthanol (conserver 15 jours).

Hydrocarbures halogénés dosables par CG et limites de détection

Hydrocarbures halogénés	Formule brute (N° CAS)	Limite de détection (en µg/L)	Ordre d'élution(*)
Bromochlorométhane	CH_2ClBr (74-97-5)	0,2(**)	–
Bromodichlorométhane	$CHBrCl_2$ (75-27-4)	0,1(**) – 0,15(***)	9
Bromoforme (tribromométhane)	$CHBr_3$ (75-25-2)	0,4(**) – 0,15(***) – 0,1(****)	16
Chloroforme (trichlorométhane)	$CHCL_3$ (67-66-3)	0,3(**) – 0,15(***) – 0,1(****)	5
Chlorure de vinyle (monochloroéthylène)	CH_2CHCl (75-01-4)	0,1 à 0,2(**) (***)	–
Dibromochlorométhane	$CHBr_2Cl$ (124-48-1)	0,2(**) – 0,15(***)	13
dibromo-1,2 éthane	$C_2H_4Br_2$ (106-93-4)	0,5(**)	14
dibromométhane	CH_2Br_2 (74-95-3)	0,1(**)	–
dichloro-1,1 éthane	$C_2H_4Cl_2$ (75-34-3)	10(**) – 0,15(***) – 0,1(****)	–
dichloro-1,2 éthane	$C_2H_4Cl_2$ (107-06-2)	10(**) – 0,15(***) – 0,1(****)	6
dichloro-1,1 éthylène	$C_2H_2Cl_2$ (75-35-4)	2(**) – 0,15(***)	–
cis-dichloro-1,2 éthylène	$C_2H_2Cl_2$ (156-59-2)	2(**) – 0,15(***) – 0,2(****)	2
trans-dichloro-1,2 éthylène	$C_2H_2Cl_2$ (156-60-5)	2(**) – 0,15(***) – 0,2(****)	–
Dichlorométhane	CH_2Cl_2 (75-09-2)	10(**) – 0,3(***) – 10(****)	1
dichloro-1,2 propane	$C_3H_6Cl_2$ (78-87-5)	10(**)	8
dichloro-1,3 propane	$C_3H_6Cl_2$ (142-28-9)	40(**)	–
Hexachlorobutadiène	C_4Cl_6 (87-68-3)	0,01(****)	–
Hexachloroéthane	C_2Cl_6 (67-72-1)	0,01(****)	–
Tétrachloroéthylène	C_2Cl_4 (127-18-4)	0,1(**) – 0,15(***) – 0,05(****)	11
tétrachlorure de carbone	CCl_4 (56-23-5)	0,05(**) – 0,15(***) – 0,01(****)	3
tétrachloro-1,1,2,2 éthane	$C_2H_2Cl_4$ (79-34-5)	0,15[c] – 0,02(****)	–
trichloro-1,1,1 éthane	$C_2H_3Cl_3$ (71-55-6)	0,05(**) – 0,15(***) – 0,02(****)	4
trichloro-1,1,2 éthane	$C_2H_3Cl_3$ (79-00-5)	5(**) – 0,15(***)	12
Trichloroéthylène	C_2HCl_3 (79-01-6)	0,2(**) – 0,15(***) – 0,05(****)	7
trichloro-1,1,2 trifluoro éthane	$C_2Cl_3F_3$ (76-13-1)	0,05(****)	–
trifluoro-1,1,3 éthane	$C_2H_3F_3$ (430-66-0)	0,5(**)	–
Étalons internes possibles			
Bromochloroéthane	C_2H_4BrCl (107-04-0)	–	10
2-méthyl, 1-propanol	$C_4H_{10}O$ (78-83-41)	–	–

(*) Ordre d'élution sur colonne capillaire de polarité intermédiaire, gaz vecteur He.
(**) Limite de détection pour la méthode par l'espace de tête avec détecteur ECD.
(***) Limite de détection pour la méthode par l'espace de tête avec détecteur SM.
(****) Limite de détection pour la méthode par extraction liquide-liquide avec détecteur ECD.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Pour la méthode par chromatographie de l'espace de tête ou pour la méthode par extraction, la gamme étalon doit être préparée de façon à ce que ses différents points se situent pour chaque polluant dans la zone de concentration où le détecteur donne une réponse linéaire. À partir de la solution fille du mélange de composés étalons, préparer extemporanément une série de dilutions dans l'eau ultra-pure, dans la gamme de concentration souhaitées. Introduire les dilutions dans une série de flacons type pénicilline ou dans des flacons destinés à l'extraction (selon la méthode choisie) identiques à ceux utilisés pour les échantillons à doser. Poursuivre exactement comme pour le mode opératoire ci-dessous.

Pour la méthode par extraction liquide-liquide, la courbe d'étalonnage peut être également préparée à partir de dilutions dans le pentane, couvrant la gamme de concentrations souhaitées.

Mode opératoire

Ajouter une quantité identique d'étalon interne à chaque échantillon et étalons externes, en procédant comme pour la gamme étalon, à partir d'une solution fille. Traiter le blanc de la même manière.

Pour la méthode à l'espace de tête, se reporter aux instructions du fabricant du système « head space » pour le traitement de l'échantillon.

Pour la méthode par extraction, il est possible d'utiliser le flacon de prélèvement dans lequel il a été conservé un volume donné d'échantillon (par exemple 200 mL) et ajouter un volume connu de pentane (ou d'hexane), puis agiter (5 minutes) et séparer les phases. Une autre méthode (plutôt conseillée) consiste à utiliser un flacon de 30 à 40 ml, complètement rempli d'échantillon et serti au moyen d'un septum. Un volume de pentane, mesuré exactement (2 à 3 mL), est ensuite introduit à l'aide de deux seringues, l'une pour injecter le solvant d'extraction et l'autre pour évacuer le même volume d'échantillon. Agiter (5 minutes) et prélever directement dans le flacon avec la seringue de chromatographie pour injecter.

En aucun cas, l'échantillon ne doit être concentré par évaporation.

Chromatographier sur colonne capillaire apolaire (de type copolymère de diphényle-diméthylpolysiloxane) ou faiblement polaire (de type copolymère de cyanopropylphényle-diméthylsiloxane) avec gradient de température (d'environ 35 °C à environ 190 °C). Un détecteur à capture d'électrons est généralement suffisant, bien que le couplage à la spectrométrie de masse permette d'atteindre des limites de détection significativement plus faibles pour certains composés. L'ordre d'élution des hydrocarbures halogénés et les limites de détection sont indiqués dans le tableau ci-dessus.

Remarques

– La méthode par espace de tête quand elle est utilisée pour des effluents industriels doit être souvent confirmée par la méthode par extraction liquide-liquide.

– Les THM totaux (limite de qualité des eaux destinées à la consommation humaine) correspond à la somme des quatre composés : chloroforme, bromodichlorométhane, dibromochlorométhane et bromoforme.

10.17.2 Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse (purge & trap)

Cette méthode permet de doser de nombreux haloalcanes (≥ 25), dont le 1-2-dichloroéthane, haloalcènes (≥ 10), dont le chlorure de vinyle, et de nombreux hydrocarbures aromatiques monocycliques halogénés ou alkylés (≥ 24) et le naphtalène (se reporter au § A-10.15.2).

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 10301 (juillet 1997). Qualité de l'eau – Dosage des hydrocarbures halogénés hautement volatils – Méthode par chromatographie gazeuse (indice de classement T 90-125).

10.18 Hydrocarbures totaux (indice hydrocarbure)

Les pétroles bruts sont d'une grande complexité et sont formés de trois grandes catégories de composés :

– les hydrocarbures saturés ou alcanes ;

– les hydrocarbures aromatiques ;

– les produits lourds (composés aromatiques à haut poids moléculaire contenant des hétéro-atomes tels que soufre, oxygène ou azote).

Après 24 heures à la surface de l'eau, le pétrole brut a pratiquement perdu par évaporation tous les hydrocarbures ayant un nombre d'atomes de carbone inférieur à 14, ce qui correspond en fait à une distillation conduite à 280 °C. En dehors de l'évaporation et de certains processus de dissolution, les produits pétroliers subissent des dégradations chimiques et bactériennes. L'oxydation, à laquelle peut être associée une polymérisation, se traduit par une élévation de la viscosité et de la densité du produit récupéré. Les résidus obtenus après ébullition à 300 °C sont moins sensibles à ces phénomènes.

Un certain nombre de méthodes de dosage ont été mises au point par le passé, elles peuvent être classées en deux grandes catégories :

– la première comprend des méthodes gravimétriques basées sur l'extraction par un solvant ainsi que celles basées sur la densité ou les propriétés optiques des éléments à doser. Ce type de méthode peu sensible s'applique mal à des contrôles de routine en raison des pertes par évaporation ou des interférences que peuvent provoquer les éléments qui, tout en étant extractibles, ne sont pas des hydrocarbures (elle n'est plus pratiquée aujourd'hui) ;

– le deuxième groupe des méthodes beaucoup plus sensibles. La *spectrométrie infrarouge* permet dans certaines conditions le dosage simultané des hydrocarbures et des phénols mais sa sensibilité varie avec les hydrocarbures rencontrés. Son utilisation est déconseillée compte tenu de la toxicité du tetrachlorure de carbone qui est interdit d'utilisation dans les laboratoires agréés. L'utilisation de la *chromatographie en phase gazeuse* permet d'atteindre une bonne sensibilité pour la détermination des hydrocarbures dont le point d'ébullition est situé entre 150 et 450 °C. Elle permet

également de préciser l'importance des n-alcanes par rapport aux autres hydrocarbures présents. Le dosage peut être effectué soit en injectant l'eau directement dans l'appareil, soit en pratiquant une extraction préalable au moyen d'un solvant. Dans ce dernier cas, on utilise soit le tétrachlorure de carbone, soit le pentane. Bien entendu, cette méthode n'est utilisable que pour des hydrocarbures dont le point d'ébullition est supérieur à celui du solvant employé en raison de l'interférence des pics sur les chromatogrammes.

La méthode par chromatographie gazeuse (technique d'espace de tête) employée pour les hydrocarbures chlorés aliphatiques volatils peut être utilisée pour le dosage des hydrocarbures.

D'un point de vue pratique, il est difficile de réaliser des prélèvements homogènes. En effet, les hydrocarbures se présentent sous forme d'un film superficiel ou de gouttelettes ; ils peuvent également être émulsionnés dans l'eau ou adhérer aux particules en suspension. Il y a donc lieu d'effectuer le prélèvement dans une colonne turbulente ou à l'aide d'un appareil spécial ; les prélèvements après décantation correspondent en fait à une préconcentration : le prélèvement est effectué dans une zone de turbulence, à mi-profondeur ; il peut être manuel ou automatique. Pour le prélèvement manuel, utiliser un flacon de verre à bouchon rodé ou vissé dont la contenance est déterminée par pesée. Le prélèvement automatique est fait au moyen d'un appareil spécial (roues à aubes, écopes, air en pression ou dépression, vanne solénoïde, etc.) en respectant certaines obligations. Du fait des erreurs d'homogénéité, il convient de multiplier les prélèvements et de tenir compte d'une valeur moyenne des résultats obtenus. Les pertes éventuelles par évaporation ou par action microbienne amènent à limiter les temps de stockage et à pratiquer les extractions très rapidement après le prélèvement.

10.18.1 Méthode par spectrométrie infra-rouge

Les hydrocarbures totaux sont extraits par le tétrachlorure de carbone en milieu acide, puis dosés, après purification, par spectrométrie infra-rouge à une longueur d'onde donnant un maximum d'absorption dans la région de 3290 à 3510 nm (*).

10.18.2 Méthode par chromatographie gazeuse

L'indice hydrocarbure correspond dans ce cas à la somme des concentrations des composés extractibles par les solvants définis ci-dessous et dont les temps de rétention en chromatographie gazeuse se situent entre ceux du *n*-décane ($C_{10}H_{22}$) et du *n*-tétracontane ($C_{40}H_{82}$).

■ Principe

Les hydrocarbures sont extraits par exemple par l'hexane contenant les deux étalons internes (C10 et C40). Après purification et concentration, ils sont dosés par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme. C'est la somme des surfaces des pics chromatographiques entre les deux étalons et sa comparaison avec celles obtenues par chromatographie de mélanges connus (étalons) qui permet de quantifier les hydrocarbures totaux.

(*) Se reporter aux suppléments en ligne (www.dunod.com) pour plus d'informations.

Prélèvements

Remplir presque totalement le flacon d'échantillonnage (de 250 mL à plus de trois litres selon la concentration en hydrocarbures), acidifier éventuellement avec de l'acide chlorhydrique ou phosphorique concentré (à pH 2). Fermer hermétiquement et conserver à 4 °C.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement d'échantillon en verre avec bouchon en verre rodé ou en PTFE ;

– Fioles en verre d'une capacité de 100 mL à bouchon en verre rodé ;

– Agitateur à renversement ;

– Centrifugeuse (facultatif) ;

– Microséparateur (facultatif) ;

– Colonne pour purification en verre avec fritté de porosité 2 µm (facultatif) ;

– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur FID (cf. § A-10.1.2).

☐ **Réactifs**

– La pureté des solvants est impérative ;

– Eau déionisée ou ultra-pure ;

– Hexane ou mélange d'hydrocarbures dont les points d'ébullition sont compris entre 36 °C et 69 °C ;

– Huile(s) minérale(s) et/ou gasoil (sans additif) ;

– Sulfate de sodium anhydre ;

– Sulfate de magnésium heptahydraté ;

– Acide chlorhydrique (densité 1,19) ou acide phosphorique (densité 1.834) ;

– Poudre de silicate de magnésium, commercialisée sous le nom de « Florisil » (30/60 mesh) ;

– Solution mère étalon :

Huile(s)		1 g
Hexane	*q.s.p.*	100 mL

– Solution mère étalon interne :

n-tétracontane (C40)		20 mg
n- décane (C10)		20 µL
Hexane	*q.s.p.*	1 000 mL

Ces deux solutions mères peuvent être conservées 6 mois à 4 °C.

– Solvant d'extraction (avec étalons internes) obtenue par dilution (10 fois) de la solution mère étalon interne dans l'hexane.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer cinq ou six dilutions de la solution mère étalon dans le solvant d'extraction (avec étalons internes), couvrant la gamme de concentrations souhaitées (généralement entre 0,1 et 1 mg/L).

■ Mode opératoire

EXTRACTION

Acidifier à pH 2 l'échantillon aqueux (refroidi à 10 °C ou moins) par de l'acide minéral (chlorhydrique ou phosphorique) et ajouter 80 à 100 g de

sulfate de magnésium par litre d'échantillon pour éviter les émulsions. Extraire par (au moins) 50 mL de solvant d'extraction (avec étalons internes) par litre d'échantillon et séparer les deux phases.

Purification et concentration de l'extrait

Sécher l'extrait avec du sulfate de sodium anhydre, puis le filtrer dans une mini-colonne contenant environ 2 g de « Florisil ». Rincer la colonne avec 10 mL de solvant d'extraction. Concentrer en plusieurs étapes si nécessaire (dont la dernière est sous courant d'azote ou d'hélium) jusqu'à 1 mL.

Chromatographie

Chromatographier sur colonne capillaire apolaire (de type copolymère de diphényle-diméthylpolysiloxane, comme par exemple DB-1, OV-1, SE-30…) ou faiblement polaire (de type copolymère de cyanopropylphényle-diméthylsiloxane, comme DB-5) avec gradient de température (d'environ 30 °C à environ 250 à 300 °C). La détection et quantification par ionisation de flamme sont généralement pratiquées, mais la spectrométrie de masse peut être également utilisée.

Il est conseillé de contrôler les pertes éventuellement dues à l'évaporation par injection en chromatographie d'une solution de *n*-décane dans l'hexane correspondant à la concentration prévue dans le concentrat final de 1 mL.

Remarques

– Si l'échantillon contient des matières organiques naturelles de type substances humiques (eau de couleur jaune), l'acidification à pH 2 ne doit pas être pratiquée pour cause de précipitation des substances humiques.

– La limite de détection est inférieure à 100 microgrammes d'hydrocarbures totaux par litre d'eau, elle est de 5 µg/L si l'élément à doser est connu avec précision.

– Pour les produits plus volatils (de C_4 à C_{10}), utiliser la méthode de dosage par chromatographie gazeuse des hydrocarbures chlorés aliphatiques volatils (A-10.17), avec le même type de colonne et un détecteur à ionisation de flamme.

– Une adaptation de la méthode permet de calculer les fractions distillées aux différentes températures.

– L'addition de Florisil permet d'éliminer les éléments extraits qui ne sont pas des hydrocarbures mais réagiraient comme tels lors de la chromatographie.

– Les hydrocarbures à point d'ébullition inférieur à 150 °C sont en partie volatilisés lors de l'évaporation.

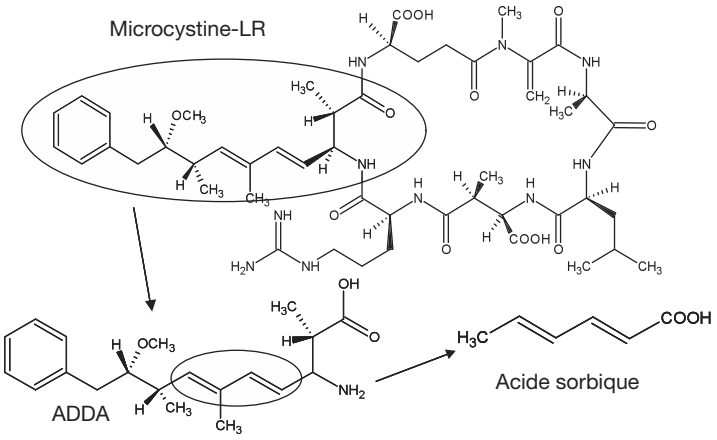
– Dans le cas d'un dosage portant sur l'eau de mer, exprimer les résultats en mg/kg. Le prélèvement est alors mesuré par différence des pesées du flacon vide et plein. Les hydrocarbures adhérant aux parois, un rinçage au tétrachlorure de carbone est utile.

Méthode de référence

AFNOR NF EN ISO 9377-2 (décembre 2000). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice hydrocarbure – Partie 2 : méthode par extraction au solvant et chromatographie en phase gazeuse (indice de classement T 90-150).

10.19 Microcystine LR (limite de qualité « Eau potable »)

Les microcystines sont des hépatotoxines produites par certaines espèces de cyanobactéries (algues unicellulaires), et surtout par l'espèce la plus connue et la plus importante, *Microcystis aeruginosa*. Ces microcystines, retrouvées dans les eaux après lyse de la cellule, sont des molécules cycliques formées de sept acides aminés dont cinq sont communs à toutes les microcystines et deux sont variables. La microcystine -LR (figure ci-dessous) est la plus fréquemment retrouvée dans les blooms algaux, elle est aussi l'une des plus puissantes. Ces toxines d'algues posent désormais des problèmes dans différents domaines et notamment dans la potabilisation de l'eau. La réglementation sur les eaux destinées à la consommation humaine préconise une limite de qualité en microcystine-LR de 1 μg/L dans l'eau potable produite à partir d'eau de surface où la prolifération d'algues est possible.



■ Principe

La biomasse contenue dans les échantillons d'eau naturelle (brute) est filtrée puis traitée par un solvant. L'extrait est ensuite concentré par SPE. La microcystine LR présente dans une eau traitée (eau potable par exemple) est extraite par SPE. Dans les deux cas l'extrait final est chromatographié par HPLC couplée à un détecteur à barrette de diodes à 238 nm.

Prélèvements

Les prélèvements en flacon stérilisé de verre inactinique (minimum 500 mL) peuvent être conservés deux à trois jours dans l'obscurité à 4 °C.

☐ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement d'échantillon en verre inactinique avec bouchon en verre rodé ou en PTFE. Ces flacons doivent être stérilisés ;
– Flacons de concentration, avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;

– Centrifugeuse (facultatif) ;
– Cuve à ultra-sons (facultatif) ;
– Cartouches pour extraction liquide-solide (SPE) de type C-18 ;
– Filtre en fibre de verre de porosité 1 à 2 μm ;
– Unité de filtration ;
– Chromatographie HPLC avec détecteur à barrette de diodes ou spectromètre UV (cf. A-10.1.2).

☐ **Réactifs**
– La pureté des solvants est impérative ;
– Eau ultra-pure ;
– Méthanol ;
– Acétonitrile ;
– Acide trifluoroactéique ;
– Solution de thiosulfate de sodium à 10 g/L ;
– Microcystine LR (994 g/mole, ε = 39800 L. mol^{-1}cm^{-1}).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir d'une solution mère dans un mélange de solvant eau/méthanol (80/20 v/v), préparer une (ou plusieurs) solution fille par dilution dans le même mélange de solvant, puis les solutions étalons de la courbe d'étalonnage de façon à couvrir une gamme des concentrations finales entre 0,2 et 3 mg/L. Il est conseillé de préparer également une solution de contrôle à 1 μg/L dans l'eau, par injection de quelques centaines de μL d'une des solutions étalons dans 1 L ou 500 mL d'eau.

■ Mode opératoire

Extraction, concentration et purification

– Dans le cas d'une eau naturelle (eau brute) contenant des algues, filtrer (au minimum) 50 mL d'échantillon sur un filtre en fibre de verre, puis laver le filtre de verre avec 3 fois 3 mL de mélange eau/méthanol 25/75 (v/v). Traiter aux ultra-sons (à froid dans la glace) puis centrifuger l'extrait. Concentrer l'extrait à sec (finalement dans un flacon de concentration de 4 mL) et reprendre par 500 μL d'un mélange eau/méthanol 80/20 (v/v). Déposer ces 500 μL en tête d'une cartouche C-18 puis environ 500 μL du rinçage (par le même mélange eau/méthanol) du flacon de concentration. Laisser le liquide passer à travers de la cartouche.

– Dans le cas d'une eau traitée, s'assurer que le pH est compris entre 5 et 8, ajouter 1 mL de la solution de thiosulfate de sodium puis 10 mL de méthanol pour 1 litre d'échantillon. Filtrer 500 mL de l'échantillon ainsi traité sur une cartouche de type C-18 (à environ 10 mL/min).

– Dans les deux cas, rincer la cartouche avec 4 mL d'une mélange eau/méthanol 80/20 (v/v). Eluer la cartouche avec 2 mL d'un mélange eau/méthanol 10/90 (v/v) contenant 0,1 % (volumique) d'acide trifluoroacétique. Évaporer à sec dans un flacon de concentration de 4 mL et reprendre le résidu par 500 μL du mélange eau/méthanol 80/20 (v/v).

Chromatographie

Chromatographier par HPLC sur colonne de type C-18 thermostatée à 35 °C avec, par exemple, le gradient d'élution linéaire suivant pendant 40 minutes :

– 30 % acétonitrile (+ 0,05 % volumique d'acide trifluoroacétique)/70 % d'eau (+ 0,05 % volumique d'acide trifluoroacétique).

– 70 % acétonitrile (+ 0,05 % volumique d'acide trifluoroacétique)/30 % d'eau (+ 0,05 % volumique d'acide trifluoroacétique).

La détection est assurée par un spectromètre UV ou un détecteur à barrette de diodes (à 238 nm) ou par spectrométrie de masse.

Remarques

– Les microcystines sont hautement toxiques pour l'homme.

Les rejets aqueux conrtenant des microcystines peuvent être traités par chloration.

– D'autres microcystines de type – YR et – RR sont disponibles dans le commerce dont l'analyse peut être exigée.

– Il est important de vérifier la concentration exacte en microcystines dans les échantillons commerciaux en vérifiant le coefficient d'extinction molaire (ε = 39800 L. $mol^{-1}cm^{-1}$) qui est le même pour les trois microcystines (-LR, -YR et – RR) d'une solution de quelques mg/L.

– La limite de quantification de cette méthode permet d'atteindre la valeur paramétrique de 1 μg/L imposée par la réglementation des eaux destinées à la consommation humaine.

Méthode de référence

ISO/DIN 20179 (octobre 2007). Qualité de l'eau – Détermination des microcystines – Méthode par extraction solide-liquide (SPE) et chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec détection UV.

10.20 Mercaptans

■ Principe

Les mercaptans forment avec les ions argent des thiodérivés de l'argent difficilement solubles. La détermination est effectuée par potentiométrie au moyen de nitrate d'argent en solution alcaline.

☐ Matériel spécial

– Potentiomètre.

– Électrodes combinées dont une électrode de référence en argent avec revêtement de sulfure d'argent.

– Burette automatique.

– Agitateur électro-magnétique.

☐ Réactifs

– Solution alcaline :

solution d'hydroxyde de sodium à 320 g/L	650 mL
ammoniaque	100 mL

– Solution de nitrate d'argent 0,01 *N*.

– Solution étalon de propylmercaptan à 1 g/L de soufre :

propylmercaptan	2,32 g
solution alcaline	50 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le propylmercaptan dans la solution alcaline, compléter le volume à 1 litre, renouveler fréquemment cette solution.

– Solution étalon de soufre à 1 g/L.

sulfure de sodium (Na_2S, 9 H_2O)	7,46 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Étalonnage

Procéder à l'étalonnage sur une dilution de la solution étalon de mercaptans et de sulfures en procédant comme pour le mode opératoire.

Mode opératoire

Effectuer le dosage dans le meilleur délai après le prélèvement. Placer 50 mL d'eau à analyser dans un bécher, ajouter 7,5 mL de solution alcaline puis titrer avec la solution de nitrate d'argent en utilisant de préférence une burette automatique et en agitant continuellement.

La titration montre le passage des potentiels négatifs aux potentiels positifs, les valeurs de potentiel dépendent aussi de l'électrode de référence utilisée. En présence de sulfures et de mercaptans, le premier saut de potentiel correspond aux sulfures soit x mL de solution de nitrate d'argent, et le second aux mercaptans soit y mL.

Expression des résultats

La teneur en mercaptans exprimée en milligrammes de soufre par litre est donnée par l'expression

$$S \text{ mg/L} = (y - x) \times 0{,}32 \times \frac{1\,000}{50}$$

1 mL de solution de nitrate d'argent 0,01 *N* correspond à 0,32 mg de soufre.

Remarques

– Les mercaptans peuvent être déterminés directement en présence de sulfures pour des concentrations supérieures à 2 mg de soufre par litre (soufre combiné des mercaptans).

– Les bromures, iodures, cyanures et les réducteurs gênent le dosage.

– Il est recommandé de s'entraîner à effectuer les déterminations sur des solutions de sulfures et de mercaptans seuls, puis sur des mélanges.

– Si le potentiel du second saut est *X*, aux environs de *X*– 800 mV se trouve le potentiel des mercaptans et à *X*– 550 mV celui des sulfures.

– Pour l'entretien des électrodes, se référer aux instructions du constructeur.

10.21 Nitrosamines (NDMA)

Les nitrosamines (dialkylnitrosamines) sont des sous-produits de désinfection non halogénés potentiellement présents dans les eaux désinfectées, notamment les eaux résiduaires et les eaux de piscines. La N-nitrosodiméthylamine (NDMA) est le composé le plus représentatif de cette famille de micropolluants très solubles dans l'eau.

La formule semi développée de la NDMA est O = N-NH_2. Elle est formée

lors de réactions complexes entre les amines secondaires et la monochloramine (produit de la réaction du chlore sur l'ion ammonium).

Son dosage est délicat compte tenu de sa grande solubilité dans l'eau. Il consiste en une extraction liquide solide (SPE ou SPME sur polyacrylate ou autres adsorbants) suivie d'une détection et quantification par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. La limite de détection annoncée dans la littérature est de l'ordre de 50 μg/L D'autres nitrosamines peuvent être détectées et quantifiées par cette méthodologie, comme la NMEA (nitrosométhyléthylamine) et la NDEA (nitrosodiéthylamine).

10.22 Organostanniques

Les composés organostanniques sont des espèces organiques de l'étain. Ils sont utilisés dans l'industrie chimique comme stabilisateurs de matières plastiques et catalyseurs de réaction. Leur présence dans l'environnement provient également de leurs applications en tant que produits phytosanitaires, agents de protection du bois et des textiles et peintures antisalissures marines, ce qui contribue à la pollution des eaux par ces composés, notamment les eaux de mer. Les mollusques bivalves sont particulièrement sensibles au tributyétain.

Leur formule générale est de la forme $R_nSn^{(4-n)+}$.

Ces composés font partie des listes des substances prioritaires en terme de pollution des eaux. Tous les composés du tributylétain sont dans la liste I des 33 substances et les composés de dibutylétain (tous les sels et oxyde) et de triphénylétain (acétate, chlorure et hydroxyde) ainsi que le tétrabutyl étain sont dans la seconde liste des 99 autres substances (cf. § G-2.2).

Une méthode permet de doser précisément dans les eaux naturelles, dont les eaux de mer, certains composés organostanniques, essentiellement cationiques ainsi que le tétrabutylétain. Les composés principalement dosables sont :

– R = butyl : n = 1, 2, 3 et 4.

– R = octyl : n = 1 et 2.

– R = phényl : n = 3.

– R = cyclohexyl : n = 3.

La méthode consiste à transformer les cations de type $R_nSn^{(4-n)+}$. En $R_n(C_2H_5)_{(4-n)}Sn$, avec du borate tétraéthyle de sodium. Les organostanniques éthylés sont ensuite extrait par un solvant apolaire (hexane par exemple). Après purification de l'extrait sur silice les dérivés tétrasusbtitués sont séparés par chromatographie, en phase gazeuse sur colonne apolaire (par exemple OV-1, HP-1 ou CPSil-8CB) couplée à la spectrométrie de masse ou à des détecteurs spécifiques (FPD ou photométrie de flamme, AES ou spectrométrie d'émission atomique). La limite de détection de la méthode est de quelques ng/L.

Méthode de référence

NF EN ISO 17353 (décembre 2005). Qualité de l'eau – Dosage de composés organostanniques sélectionnés – Méthode par chromatographie en phase gazeuse (indice de classement T90-251).

10.23 Perturbateurs endocriniens de type œstrogéniques (hormones)

Les perturbateurs endocriniens sont définis comme des substances exogènes ayant des effets néfastes sur la santé d'un organisme sain ou de sa progéniture en modifiant les fonctions endocrines. Ces composés peuvent appartenir à des familles chimiques très diverses et posséder des activités oestrogéniques tout aussi variées. Parmi les perturbateurs endocriniens les plus couramment étudiés dans différents types d'eaux, on retrouve :

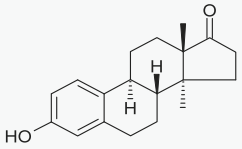
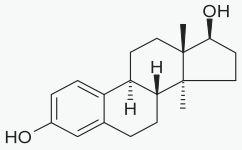
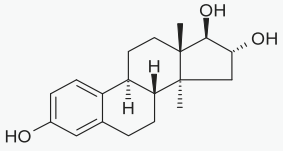
– les alkyl phénols (cf. A-10.25.6) et leurs produits de dégradation de type éthoxylates ;

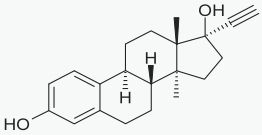
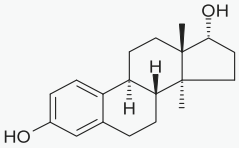
– le bisphénol A ;

– les dérivés hormonaux.

Compte tenu des besoins analytiques seulement émergeants dans ce domaine des perturbateurs endocriniens, ce paragraphe est plutôt une synthèse bibliographique qu'une présentation de méthodes bien établies et/ou normalisées. Par ailleurs, il est centré sur le dosage des principales hormones dont le potentiel œstrogénique est parmi les plus élevés.

Composés dosables par les méthodes présentées

Acronyme	Nom	N° CAS	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Formules développées
E1	Estrone	53-16-7	$C_{18}H_{22}O_2$	270,4	
E2	17 β Estradiol	50-28-2	$C_{18}H_{24}O_2$	272,4	
E3	Estriol	50-27-1	$C_{18}H_{24}O_3$	288,4	

Acronyme	Nom	N° CAS	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Formules développées
EE2	17 α Ethinyl-Estradiol	57-63-6	$C_{20}H_{24}O_2$	296,4	
/	17 α Estradiol	57-91-0	$C_{18}H_{24}O_2$	272,4	

Principe

Les protocoles analytiques utilisés dans la littérature se déroulent généralement en plusieurs étapes comprenant un pré-traitement de l'échantillon, une extraction, une éventuelle dérivation avant analyses par GC/MS ou GC/MS², LC/MS ou LC/MS².

Prélèvements et pré-traitement

Afin de limiter la biodégradation des hormones, notamment de E2 en E1, il est recommandé de bloquer l'échantillon avec de l'azoture de sodium ou du formaldéhyde à 1 %. Comme la plupart des méthodes citées dans la littérature font appel à une étape d'extraction sur phase solide, une préfiltration est souvent nécessaire sur des filtres en fibre de verre de porosité comprise entre 0,45μm et 1,2 μm. L'ajustement du pH de l'échantillon n'est pas systématique. Le pH est parfois ajusté entre 2 et 4 avec de l'acide sulfurique.

Mode opératoire

EXTRACTION

La plupart des méthodes analytiques décrites dans la littérature font appel à une extraction de type SPE. Les supports les plus couramment employés sont les supports greffés octadécyle ou les supports polymériques, notamment dans le cas de méthodes multirésidus. Si l'extraction est généralement réalisée en différé, il est possible de la réaliser en ligne avec des performances satisfaisantes. Le tableau suivant présente une synthèse des principaux supports de SPE employés, les protocoles et les rendements associés.

Principaux protocoles pour l'extraction SPE des dérivés hormonaux

	Support SPE de type C18	Support SPE de type HLB	SPE en ligne de type PLRPS
Type de support et masse d'adsorbant	Cartouche – 500 mg	cartouche – 200 mg	Cartouche – 10 x 2 mm
Conditionnement	acétate d'éthyle (3 x 2 mL) puis méthanol (3 x 2 mL) puis eau (3 x 2 mL) ou méthanol (5 ml) puis eau (5 ml)	*ter*-butylméthyl éther (3 mL) puis méthanol (3 mL) puis eau (3 mL) ou acétate d'éthyle (5 ml) puis méthanol (5 ml) puis eau (5 ml) ou acétone (2x5 mL) puis eau (5 ml) ou méthanol (5 ml) puis eau à pH 4 (5 ml)	acétonitrile (1 mL) puis eau (1 mL)
Percolation	500 mL à 1 L	1 L	20 mL
Lavage	2 mL méthanol/eau (5/95)	quelques mL de différents solvants dont des mélanges méthanol/eau ou acétone/eau	1 mL eau
Élution	méthanol/acétate d'éthyle 50/50 (3 x 2 mL) ou méthanol (2 x 4 mL)	méthanol. ter-butylméthyléther 10/90 (6 mL) ou acétone (5 ml) ou acétate d'éthyle (2 x 4 mL) ou méthanol (2 x 5 ml)	gradient phase mobile
Débit	5 ml/min	1 à 15 ml/min	8 ml/min
Rendement	de 70 à 120 %	de 80 à 100 %	de 70 à 100 %
Niveau de dopage	50 ng/L	5 à 1000 ng/L	–

Il est quelquefois fait appel à d'autres types d'extraction comme l'extraction liquide-liquide en continu ou l'extraction sur barreau aimanté recouvert d'adsorbant.

Dérivation

Afin d'augmenter la sensibilité de la méthode dans son ensemble, une dérivation est conseillée avant l'analyse chromatographique, de type GC-MS plus particulièrement. Cette étape suit généralement la SPE : l'extrait est évaporé à sec et les réactifs sont ajoutés.

Les différents agents de dérivation suivants peuvent être utilisés :

– PFBBR : 2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl bromide.
– TMSI : 1-(Trimethylsilyl) imidazole.
– BSTFA :, *O*-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide.
– MSTFA : *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide.

Le MTBSTFA permettrait l'obtention de pics de meilleure allure que le

BSTFA pour E2 et EE2. L'ajout de pyridine comme catalyseur de la réaction de dérivation avec le MTBSTFA permettrait d'atteindre des rendements de dérivation quantitatifs. Les extraits dérivés sont généralement évaporés à sec et repris par un solvant organique dépendant du type de chromatographie choisie. Certains auteurs recommandent une analyse rapide de l'échantillon après dérivation (délai d'environ 30 minutes) afin de ne pas perdre de sensibilité du fait de l'inversion de la réaction de dérivation.

Principaux protocoles de dérivation des dérivés hormonaux

	Dérivation au PFBBR puis TMSI	Dérivation au BSTFA	Dérivation au MSTFA
Protocole de dérivation après évaporation à sec pour analyse GC/MS	Dérivation au PFBR + 1 mL d'acétone + 100 µL de KCO_3 à 10 % + 10 µL de PFBBR à 60 °C pendant 1 h Evaporation à 100 µL + 0,5 mL eau + 2,5 mL hexane Extraction séchage avec Na_2SO_4 anhydre évaporation phase organique à 100 µL Dérivation au TMSI + 100 µL TMSI à température ambiante pendant 30 min + 200 µL hexane	25 à 50 µL de BSTFA + 10 à 50 µL de pyridine à 60 – 65 °C pendant 30 à 25 min	MSTFA À 70 °C pendant 2 h

Chromatographie gazeuse

L'analyse des dérivés hormonaux peut être réalisée par GC/MS ou GC/MS², avec ou sans dérivation, mais la dérivation augmente la sensibilité de la méthode, notamment pour l'analyse GC/MS. Les phases stationnaires des colonnes capillaires utilisées sont de type apolaire (DB5-MS ou HP5-MS) avec gradient de température de 100 à 280 °C. La majorité des ionisations est réalisée par impact électronique à 70 ev ; certaines méthodes emploient l'ionisation chimique, et plus particulièrement l'ionisation chimique négative avec du méthane comme gaz réactant.

Les spectres de masse et, donc, les ions permettant la quantification ou les ions pères à la base des transitions MRM, dépendent de l'agent de dérivation employé. Les rapports m/z des ions employés pour la quantification ou pour la confirmation sont précisés dans le tableau ci-dessous.

Rapports m/z des ions ou transitions MRM et limite de détection en GC/MS et GC/MS²

Analyses	Détection EI-MS	Limites de détection annoncées dans la littérature	Détection EI-MS²	Limites de détection annoncées dans la littérature
E1	342, 257, 218, 244	0,005 à 8,5 ng/L	270 → 185, 210 → 170	7,5 ng/L
E2	416, 285, 326	0,005 à 17 ng/L	272 → 213, 272 → 188	27,5 ng/L
E3	504, 414, 386	1 ng/L	-	-
EE2	440, 425, 285, 232	0,05 à 4 ng/L	213 → 157, 213 → 133	17,5 ng/L
17 α estradiol	416, 285	0,5 ng/L	-	-
Diéthylstibestrol	412	0,5 ng/L	-	-
Mestranol	367, 300	1 ng/L	-	-

Chromatographie liquide

Comme dans le cas de la chromatographie gazeuse, l'analyse par HPLC fait le plus souvent appel à une détection par spectrométrie de masse.

Les colonnes chromatographiques sont de type C-18 et les phases mobiles sont des gradients acétonitrile (ou méthanol)/eau (avec parfois 0,1 % d'acide formique) ou encore acétonitrile/n-méthylmorpholamine (10 mM).

Contrairement à l'analyse par chromatographie gazeuse, l'analyse par LC/MS est généralement réalisée directement après la phase de concentration, sans dérivation, et fréquemment en tandem. Les sources employées sont ESI et APCI, mais il est également possible d'utiliser la source APPI (Atmospherical Pressure Photo Ionisation) qui conduirait à une meilleure sensibilité ainsi qu'à des transitions MRM de confirmation plus intenses. Cette source est cependant peu utilisée dans les laboratoires d'analyses de routine.

Rapports m/z des ions ou transitions MRM et limite de détection en LC/MS et LC/MS^2

Analyses	Détection ESI (nég.)-MS	Limites de détection annoncées dans la littérature	Détections [a]ESI (nég)-MS^2 [b]APCI (pos)-MS^2 [c]ESI (pos)-MS^2	Limites de détection annoncées dans la littérature
E1	269	2,5 ng/L	[a]269,4 → 143 [b]271 → 253 [c]269 → 145 et 143	[a]0,5 ng/L [b]1 ng/L [c]0,3 ng/L
E2	271	2,5 ng/L	[a]271,4 → 145 [b]255 → 159 [c]271 → 145 et 183	[a]0,8 ng/L [b]1 ng/L [c]0,9 ng/L
E3	-	-	[a]287,4 → 171 [b]271 → 253 [c]287 → 171 et 145	[a]1,3 ng/L [b]5 ng/L [c]0,7 ng/L
EE2	287	5 ng/L	[a]295,4 → 145 [b]279 → 133 [c]295 → 145 et 149	[a]0,6 ng/L [b]1 ng/L [c]0,7 ng/L
Diéthylstibestrol	295	3,2 ng/L	[c]267 → 222	[c]0,7 ng/L
E2-glucoronide	447	2,2 ng/L	[c]447 → 113 et 271	[c]0,5 ng/L
E1-sulfate	349	0,5 ng/L	[c]349 → 269 et 14	[c]0,03 ng/L
E2-diacétate	313	14,8		
Testostérone	-	-	[b]289 → 97	[b]1 ng/L
Progestérone	-	-	[c]315 → 109 et 97	[c]0,3 ng/L
Levonorgestrel	-	-	[c]313 → 245 et 185	[c]1,9 ng/L
Norethindrone	-	-	[c]299 → 171 et 145	[c]4 ng/L
Androstenedione	-	-	[b]287 → 97	[c]1 ng/L

Effet de matrice

Quelle que soit la méthode chromatographique employée, il est nécessaire d'ajouter à l'échantillon un ou plusieurs étalons internes afin de prendre en compte les effets de matrice. La détection étant généralement de type MS, les étalons internes les plus adaptés sont les étalons isotopiques des molécules cibles (E1-D4, E213C2 ou E2-D3, E3-D3, EE2-D4, testostérone-D3). Pour des raisons de coût ou du fait de méthodes multi-résidus, certains auteurs emploient des étalons internes deutériés appartenant à d'autres familles comme par exemple l'equilin-d4.

Ces étalons internes peuvent être ajoutés à l'échantillon après prétraitement mais avant la SPE ; leurs concentrations varient de 10 à 100 ng/L. Ils peuvent être ajoutés en fin d'extraction dans la fraction collectée ou dans le solvant de reprise ; leurs concentrations sont l'ordre du microgramme par litre. Dans certains protocoles, des étalons internes différents sont ajoutés lors de ces deux étapes.

Remarques

– D'autres hormones peuvent être présentes dans les eaux, bien que moins fréquemment citées, comme la testostérone, le diéthylstilbestrol, la progestérone et des métabolites du 17 β-estradiol (dérivé glucoronidé) ou de l'estrone (dérivé sulfaté).

– Lors de l'analyse du 17β–Estradiol, il est opportun de tenir compte du 17α–Estradiol, qui ne diffère de son homologue que par la position stérique du groupement hydroxyle du cycle à 5 carbones. Cette très faible différence peut entraîner une co-élution chromatographique de ses deux homologues et donc une surestimation des teneurs en E2.

– EE2 peut se transformer en E1 pendant une dérivation au MTBSTFA.

– L'influence de la pré-filtration sur le résultat analytique n'est pas clair. La littérature est contradictoire à ce sujet.

10.24 Pesticides et apparentés (limité de qualité « Eau potable »)

Les pesticides, encore appelés produits phytopharmaceutiques (ou phytosanitaires) dans le domaine de l'agriculture, sont des substances utilisées comme moyen de lutte contre des organismes indésirables (plantes, animaux, champignons, bactéries). Le terme pesticide englobe également des usages non agricoles, pour lesquels la dénomination de produits biocides a été adoptée.

L'utilisation des pesticides intègre différents objectifs :

i) la protection des cultures contre des organismes vivants jugés nuisibles (insectes, champignons, microorganismes), par destruction (totale ou partielle) de ces nuisibles, régulation de leur croissance, répulsion,…

ii) la destruction ou la réduction de croissance de végétaux indésirables,

iii) la protection pour leur conservation des denrées ou des matériaux stockés. Les molécules chimiques efficaces pour cet usage (nommées substances actives) sont intégrées à des préparations commerciales comportant une ou plusieurs substances actives.

Si les molécules les plus employées ont pour objectif la lutte contre les mauvaises herbes des cultures (herbicides), la destruction des champignons (fongicides) ou des insectes (insecticides), de nombreuses formulations sont utilisées pour leur rôle rodenticide (contre les rongeurs : rats, souris…), molluscicide (contre limaces, escargots et nématodes), acaricides (contre les acariens), algicides, bactéricides, formicides (contre les fourmis), miticides (contre les mites), etc. Près de 55 % du tonnage global de matières actives utilisées en France concerne l'action fongicide, alors que les herbicides approchent 34 % de ce tonnage et que les insecticides n'en représentent qu'un peu plus de 4 %.

Les pesticides peuvent être des substances d'origine minérale ou organique et, depuis plusieurs années on dénombre environ 1 000 substances actives entrant dans la composition de plus de 8 000 produits commerciaux homologués, le resserrement de la législation induisant une tendance à la diminution des molécules homologuées.

Si les molécules à base de cuivre et de soufre sont encore présentes dans le marché français (bien qu'en forte diminution depuis le début des années 2000), les molécules organiques de synthèse sont de loin majoritaires (57 300 tonnes en 2004, contre 18 800 tonnes pour la somme cuivre et soufre).

Les familles chimiques les plus représentées pour les usages actuels et les plus recherchées lors du contrôle sanitaire sont répertoriées dans le tableau ci-dessous. Quelques molécules appartenant à ces familles et fréquemment citées ou recherchées dans les eaux naturelles sont indiquées dans ce tableau.

Quelques molécules enfin sont considérées comme apparentées aux pesticides, car quantifiées parallèlement. Ce sont les polychlorobiphényles (PCB) et les polychlorotriphényls (PCT).

Le Code de la Santé Publique (CSP), en application de la directive européenne 98/83/CE, fixe les limites de qualité dans l'eau potable à 0,1 μg/L pour chaque pesticide (à l'exception de l'aldrine, de la dieldrine, de l'heptachlore et de l'heptachlore époxyde pour lesquels la limite est de 0,03 μg/L) et à 0,5 μg/L pour le total des pesticides mesurés. Quant aux eaux brutes (de surface ou souterraines), utilisées pour la production d'eau potable, leur limite de qualité est fixée à 2 μg/L par substance.

Pour les années 2004 à 2006, la recherche de pesticides dans les eaux brutes françaises a conduit à la réalisation de plus de 2 500 000 analyses, en recherchant 418 pesticides différents. Mais trois familles de pesticides (triazines, organochlorés et urées substituées) regroupent les molécules les plus fréquemment recherchées, le choix des molécules ciblées dépendant principalement du contexte régional (pratiques culturales notamment).

Au cours de cette même période, les analyses montrent la présence de 195 pesticides différents dans les eaux brutes utilisées pour la production d'eau potable, avec des différences significatives selon l'origine de l'eau. Ainsi dans les eaux souterraines 176 pesticides différents ont été identifiés, les molécules les plus fréquemment quantifiées étant le déséthylatrazine et l'atrazine, respectivement dans 29 % et 19 % des cas. Quant aux analyses sur les eaux superficielles, elles indiquent la présence de 160 pesticides différents, l'hydroxy-2 atrazine et l'AMPA (métabolite du glyphosate) étant le plus souvent détectés (respectivement dans 42 % et 34 % des cas).

Classification des pesticides en fonction de leur famille chimique

Famille de pesticide	Quelques molécules les plus connues ou les plus recherchées dans les eaux naturelles
Triazines	Atrazine, simazine, cyanazine, terbutylazine, propazine, prométhrine, terbuthylazine, terbutryne, terbuméton, améthryne, métribuzine, desméthryne, secbuméton, prométon, métamitrone
Métabolites de triazines	Déséthylatrazine, désisopropylatrazine, hydroxy-2 atrazine, déséthylterbuthylazine
Organochlorés	Lindane, aldrine, dieldrine, heptachlore, heptachlore époxyde, chlordane, α-HCH, β-HCH, hexachlorobenzène, DDE-4,4', DDD-4,4', DDT-4,4', DDT-2,4', DDD-2,4', DDE-2,4', α-endosulfan, β-endosulfan, chlordécone
Urées substituées	Chlortoluron, diuron, isoproturon, linuron, métobromuron, néburon, monolinuron, métabenzthiazuron, métoxuron
Organophosphorés	Ethyl-parathion, diazinon, malathion, parathion
Carbamates	Carbendazime, aldicarbe, carbétamide
Dithiocarbamates	Manèbe, zinèbe
Amides et phénylamides	Alachlore, métolachlore, oxadixyl
Nitrophénols	Ioxynil
Aryloxyacides	2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique), 2,4,5-T (acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique), MCPA (acide méthyl-2, chloro-4, phénoxyacétique)
Triazoles	Difénoconazole, fenbuconazole, myclobutanil, propiconazole, tébuconazole, tétraconazole, triadimefon, triticonazole, triadiménol
Pyréthrinoïdes	Alléthrine, bifenthrine, perméthrine, phénothrine, resméthrine, sumithrine, téfluthrine, tétraméthrine, cyfluthrine, cyhalothrine, cyperméthrine, deltaméthrine, fenvalérate, fluméthrine, fluvalinate, tralométhrine
Tricétones	Sulcotrione, mésotrione
Sulfonylurées	Thifensulfuron, chlorsulfuron
Anilides substituées	Propanil
Dinitroanilines	Pendiméthaline, imazéthapyr
Pyrimidines	Fénarimol
Composés organofluorés et organobromés	Dimefox, dibromométhane
Autres pesticides	Imidaclopride Glyphosate et son métabolite l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) Fipronil Glyphosinate Trichlopyr Bialophos Dicamba Pyridate

10.24.1 Organochlorés par chromatographie gazeuse

Les insecticides organo-chlorés sont interdits d'utilisation, mais leur stabilité et/ou des dérogations ponctuelles d'utilisation, induisent une présence de certains d'entre eux (ou de leurs métabolites) dans le milieu naturel.

La méthode présentée permet de doser une quinzaine de ces insecticides organo-chlorés, ainsi que des polychlorobiphényles et certains polychlorobenzènes, sauf les dichlorobenzènes qui peuvent être analysés par une autre méthode (§A-10.9).

■ Principe

Après extractions successives par un solvant non polaire (hexane, heptane ou éther de pétrole), l'extrait concentré, séché et purifié est analysé par chromatographie gazeuse avec un détecteur à capture d'électrons ou couplée à la spectrométrie de masse. Cette extraction peut également être pratiquée à l'aide d'une phase solide par SPE.

Les laboratoires annoncent des limites de détection comprises entre 1 et 10 ng/L pour les insecticides organo-chlorés et les polychlorobenzènes et parfois plus élevées pour les polychlorobiphényles (1 à 50 ng/L).

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre (ou plus) en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis presque complètement (90 %). Si nécessaire corriger le pH entre 5 et 7,5 (ou 2 pour l'endosulfan). Pratiquer l'extraction si possible immédiatement (dans les 24 h). Les extraits séchés peuvent être conservés pendant un ou deux mois, à 4 °C.

☐ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;
– Ampoules à décanter en verre de 1 litre avec robinet en PTFE ;
– Flacons de concentration, avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;
– Bain thermostaté ;
– Évaporateur rotatif sous vide ou tout autre système d'évaporation ;
– Colonnes de verre pour purification par adsorption désorption ;
– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur ECD ou couplée à la spectrométrie de masse.

☐ Réactifs

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;
– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;
– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;
– Hexane ou éther de pétrole 45-60 °C ;
– Ether diéthylique dont l'absence de péroxyde est vérifiée par le test à l'iodure de potassium ;
– Méthanol ou acétone ;
– Sulfate de sodium anhydre obtenu soit par chauffage à 400-500 °C pendant 4 heures, soit par lavage à l'éther de pétrole, puis séchage en deux étapes (sous hotte ventilée puis à 110 °C) ;

– Silicate de magnésium à usage chromatographique 60-100 mesh (commercialisé sous le nom de Florisil), activé à 180 °C pendant 72 heures et conserver à 150 °C ;
– Solutions mères étalon à 100 mg/L (stable 6 mois à 1 an) :

Étalon certifié		10 mg
Hexane ou Ether de pétrole	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions étalons intermédiaires à 1 à 10 mg/L.

Composés organo-chlorés dosables par CG

Noms ou acronymes usuels	Noms chimiques IUPAC	Formule brute (N°CAS)	Fragments m/z	Ordre d'élution[a]
	Insecticides organo-chlorés			
Aldrine	*Endo-exo*-hexachloro-1,2,3,4,10,10 hexahydro-1-,4,4a,5,8,8a diméthano-1:4,5:8 naphtalène	$C_{12}H_8Cl_6$ (15972-60-8)	66, 263	12
Dieldrine	*Endo-exo*-hexachloro-1,2,3,4,10,10 époxy-6,7 octa-hydro-1,4,4a,5,6,7,8,8a diméthano-1:4,5:8 naphtalène	$C_{12}H_8Cl_6O$ (60-57-1)	79, 277	17
Chlordécone	1,1a,3, 5a, 4, 5, 5a ,6 –décachlorooctahydro-1,3,4 –métheno 2H-cyclobuta[c, d]pentalen-2-one	$C_{10}Cl_{10}O$ (143-50-0)	272, 273	
Endosulfan	Oxyde d'hexachloro-1,9,10,11,12,12 dioxa-4,6 thia-5 tricyclo[7.2.1.0^{2,8}] dodécène-10	$C_{19}H_6Cl_6O_3S$ (115-29-7)	195, 241	15 (α) 20 (β)
Endrine	*Endo-endo*-hexachloro-1,2,3,4,10,10 époxy-6,7 octa-hydro-1,4,4a,5,6,7,8,8a diméthano-1:4,5:8 naphtalène	$C_{12}H_8Cl_6O$ (72-20-8)	263, 245	19
α –HCH	Hexachloro-1,2,3,4,5,6 cyclohexane	$C_6H_6Cl_6$ (608-73-1)	181, 219	4
β –HCH	stéréo isomère du α –HCH	$C_6H_6Cl_6$ (608-73-1)	181, 219	5
γ –HCH (lindane)	stéréo isomère du α –HCH	$C_6H_6Cl_6$ (58-89-9)	181, 219	7
δ –HCH	stéréo isomère du α –HCH	$C_6H_6Cl_6$ (608-73-1)	181, 219	8
ε –HCH	stéréo isomère du α –HCH	$C_6H_6Cl_6$ (608-73-1)	181, 219	10
Heptachlore	Heptachloro-1,4,5,6,7,8,8 tétrahydro-3a,4,7,7a métha-no-4:7 indène	$C_{10}H_5Cl_7$ (76-44-8)	100, 272	11
Hepta-chlorépoxyde	Heptachloro-1,4,5,6,7,8,8 époxy-2,3 tétrahydro-3-a,4,7,7a méthano-4:7 indane	$C_{10}H_5OCl_7$	253, 289 353, 355	13
DDE *o,p'* (dégradation du DDT *op'*)	Dichloro-1,1 (chloro-2 phényl)-2 (chloro-4 phényl)-2 éthylène	$C_{14}H_8Cl_4$	-	14
DDE*p,p'* (dégradation du DDT *pp'*)	Dichloro-1,1 bis(chloro-4 phényl)-2,2 éthylène	$C_{14}H_8Cl_4$	-	18

TDE *o,p'*	Dichloro-1,1 (chloro-2 phényl)-2 (chloro-4 phényl)-2 éthane	$C_{14}H_{10}Cl_4$		
TDE *p,p'*	Dichloro-1,1 bis(chloro-4 phényl)-2,2 éthane	$C_{14}H_{10}Cl_4$	235,165	21
DDT *o,p'*	Trichloro-1,1,1 (chloro-2 phényl)-2 (chloro-4 phényl)-2 éthane	$C_{14}H_9Cl_5$ (50-29-3)	235,165	22
DDT *p,p'*	Trichloro-1,1,1 bis(chloro-4 phényl)-2,2 éthane	$C_{14}H_9Cl_5$	235,165	24
Méthoxychlore	Trichloro-1,1,1 bis(méthoxy-4 phényl)-2,2 éthane	$C_{16}H_{15}Cl_3O_2$ (72-43-5)	227,308	26
	Polychlorobiphényles			
PCB 28	Trichloro-2,4,4' biphényle	$C_{12}H_7Cl_3$ (7012-37-5)	256,186	
PCB 52	Tétrachloro-2,2',5,5' biphényle	$C_{12}H_6Cl_4$ (35693-99-3)	292,220	
PCB 101	Pentachloro-2,2',4,5,5' biphényle	$C_{12}H_5Cl_5$ (37680-73-2)	326,254	16
PCB 138	Hexachloro-biphényle-2,2',3,4,4',5'	$C_{12}H_4Cl_6$ (35065-28-2)	360,290	25
PCB 153	Hexachloro-biphényle-2,2',4,4',5,5'	$C_{12}H_4Cl_6$ (35065-27-1)	360,290	23
PCB 180	Heptachloro-biphényle-2,2',3,4,4',5,5'	$C_{12}H_3Cl_7$ (35065-29-3)	394,324	27
PCB 194	Octachloro-biphényle-2,2',3,3',4,4',5,5'	$C_{12}H_2Cl_8$	430,358	
	Polychlorobenzènes			
	Trichloro-1,2,4 benzène	$C_6H_3Cl_3$	180,145	1
	Tétrachloro-1,2,3,4 benzène	$C_6H_2Cl_4$	216,179	2
	Pentachlorobenzène	C_6HCl_5 (608-93-5)	250,215	3
	Hexachlorobenzène	C_6Cl_6 (118-74-1)	284,286	6
	Pentachloronitrobenzène	$C_6O_2NCl_5$	237,295	9

[a] Ordre d'élution sur colonne capillaire apolaire (DB1, OV1, SE30, …) avec gaz vecteur He

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

ÉTALONNAGE PAR INJECTION DIRECTE

Préparer juste avant utilisation, des dilutions dans l'éther de pétrole ou dans l'hexane (q.s.p. 100 mL) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (1 à 200 μg/L).

ÉTALONNAGE PAR EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE

La procédure peut être étalonnée dans son ensemble (à faire de temps en temps) en dopant des solutions aqueuses d'eau ultra-pure. Préparer des solutions d'étalons externes dans le méthanol (ou l'acétone) de façon à ce qu'un très faible volume (quelques dizaines ou centaines de μL) de ces solutions dans 1 litre d'eau conduise à une concentration comprise entre 1 et 200 ng/L de substance de référence dans l'eau. Préparer ces solutions le jour même de l'analyse. Les traiter ensuite de la même façon que les échantillons à analyser.

☐ **Mode opératoire**

Extraction liquide-liquide

Verser dans une ampoule à décanter un litre d'eau à analyser et 50 mL de solvant (éther de pétrole ou hexane). Agiter manuellement 5 min. Laisser décanter et recueillir la phase aqueuse dans le flacon ayant servi au prélèvement et la phase organique dans un flacon contenant 10 g de sulfate de sodium. Renouveler l'extraction dans les mêmes conditions une fois avec 50 mL de solvant puis avec 25 mL. Réunir les phases organiques dans le même flacon, les laisser en contact avec le sulfate de sodium pendant au moins 30 minutes. Agiter de temps en temps.

Pour éliminer les cristaux de sulfate de sodium, filtrer la phase organique sur un petit entonnoir contenant un tampon de laine de verre lavé au préalable par 50 mL de solvant. La filtration terminée, rincer le tampon de laine de verre avec 10 mL de solvant. Cette extraction peut également être effectuée dans le flacon de prélevement.

Purification

Cette étape n'est pas toujours nécessaire, elle s'imposera chaque fois que l'interprétation des chromatogrammes sera rendue difficile par suite du recouvrement des pics par ceux des composés interférents.

Un traitement par chromatographie d'adsorption sur silicate de magnésium peut permettre d'éliminer certains de ces composés. Pour cette phase de purification, deux méthodes sont utilisables.

Méthode 1

Utiliser une colonne de diamètre intérieur inférieur à 1 cm.

Introduire un tampon de laine de verre au fond de la colonne, puis du sulfate de sodium anhydre sur une hauteur de 2 cm, 10 g de silicate de magnésium activé et à nouveau 2 cm de sulfate de sodium anhydre. Rincer la colonne avec un mélange d'éther de pétrole-hexane ou d'éther de pétrole-éther diéthylique puis avec 100 mL d'éther de pétrole ou d'hexane. Concentrer l'extrait organique à 1 ou 2 mL. Rincer le flacon avec 2 à 3 mL de solvant et les joindre au concentrat. Verser l'extrait dans la colonne de telle sorte que le niveau du liquide affleure celui du sulfate de sodium. Éluer avec 100 mL d'hexane ou d'éther de pétrole à un débit de 5 mL/min. L'éluat E_1 obtenu contient : l'heptachlore, l'aldrine et les PCB. Procéder à une nouvelle élution par 100 mL du mélange éther de pétrole-éther diéthylique ou hexane-éther diéthylique. L'éluat E_2 ainsi obtenu contient : HCB – HCH – heptachlore époxyde – DDD – DDE – DDT – dieldrine.

Méthode 2

Utiliser une colonne de diamètre interne d'environ 2 cm, la garnir comme la précédente à l'exception du silicate de magnésium qui aura été désactivé par 5 mL d'eau. Rincer la colonne avec 50 mL de mélange, 80 mL d'éther de pétrole et 20 mL d'éther diéthylique puis avec 50 mL d'éther de pétrole.

Concentrer l'extrait organique comme dans la méthode 1. Introduire l'extrait et le solvant de rinçage dans la colonne. Éluer avec 100 mL d'éther de pétrole à un débit réglé à 1 goutte toutes les 2 secondes environ, soit l'éluat E_1. Éluer une deuxième fois avec 100 mL d'un mélange de 80 mL d'éther de pétrole et 20 mL d'éther diéthylique, soit l'éluat E_2 .

L'éluat E_1 renferme : PCB, soufre, HCB, HCH et ses isomères, quintozène, chlordane, heptachlore, une partie de l'heptachlore époxyde, aldrine, op′ DDE, DDD, op′ pp′ DDT, polychlorocamphène, toxaphène.

L'éluat E_2 renferme : dicofol, pp′ dichlorobenzophénone, dieldrine, endrine, endosulfan, une partie de l'heptachlore époxyde, méthoxychlore, tétradifon, éventuellement des organophosphorés.

La séparation des PCB des autres pesticides peut être obtenue par une nouvelle chromatographie de l'éluat 1. Pour cela, garnir une colonne de 2 cm remplie selon les modalités de la méthode 1.

Rincer la colonne avec 50 mL d'un mélange de 80 mL d'éther de pétrole et 20 mL d'éther diéthylique puis avec 50 mL d'éther de pétrole. Concentrer l'éluat 1 à 5-10 mL, l'introduire dans la colonne. Éluer avec 100 mL d'éther de pétrole soit E_3 qui contient les PCB. Éluer à nouveau avec 100 mL du mélange 80 mL d'éther de pétrole, 20 mL d'éther diéthylique ; dans cet éluat, se trouve le reste des organochlorés de E_1.

Tous les éluats sont alors concentrés à 1 mL selon le mode opératoire décrit ci-après.

Concentration

La solution organique provenant de l'extraction ou les éluats obtenus au cours de la purification sont concentrés au moyen d'un évaporateur rotatif sous vide dans un ballon chauffé dans un bain-marie dont la température ne dépasse pas 35 °C. Lorsque le volume atteint 2 mL, transvaser dans un petit tube gradué, rincer le ballon avec très peu de solvant, le joindre au contenu du tube. Achever la concentration à 1 mL par évaporation à la température ambiante par un jet d'hélium ou d'azote trés pur ou d'air sec et purifié.

Chromatographie en phase gazeuse

Pour la mise en fonctionnement et réglage du chromatographe en phase gazeuse, se reporter aux instructions du constructeur. Injecter 1 µL de chaque extrait. Identifier les composés d'après les temps de rétention. Pour la quantification, se reporter aux courbes d'étalonnage.

Utiliser une colonne non polaire et un gradient de température d'environ 80 °C à environ 250 °C. L'ordre d'élution des composés organo-chlorés sera proche de celui indiqué dans le tableau ci-dessus.

Remarques

– Les interférences dues aux matières en suspension en sont sensibles qu'à partir de 50 mg/L

– Les matières organiques peuvent interférer et diminuer la sensibilité de la méthode

– Les limites de détection sont comprises entre 1 à 10 ng/L pour les insecticides chlorés et les polychlorobenzènes et 1 à 50 ng/L pour les PCB

– Certains PCB ne sont pas dosés par la méthode

– Des solutions étalons de PCB congénères sont disponibles dans le commerce

– Pour l'extraction, une agitation mécanique est préférable à l'agitation manuelle.

– La déshydratation de l'extrait par le sulfate de sodium anhydre peut être remplacée par une congélation à – 18 °C.

– Nettoyage de la verrerie :

Les deux techniques suivantes ont fait la preuve de leur efficacité.

1) Mélange sulfochromique (solution saturée de dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$) dans l'acide sulfurique concentré.

Faire tremper la verrerie préalablement lavée pendant 4 à 12 h dans un mélange sulfochromique. La rincer abondamment avec de l'eau déionisée de qualité connue, puis avec un peu d'acétone ; la sécher dans une étuve à 50 °C. Boucher chaque récipient avec une feuille d'aluminium préalablement calcinée à 400-500°C pendant 2 heures.

2) Calcination à 400 °C. Laisser la verrerie tremper dans une solution de détergent de laboratoire pendant plusieurs heures. La rincer abondamment avec une eau déionisée de qualité connue. Placer la verrerie dans un four réglé à 400 °C pendant 2 h. Après refroidissement, boucher les ouvertures avec une feuille de papier d'aluminium calcinée dans les mêmes conditions.

– La purification de l'extrait peut être effectuée sur d'autres matériaux, comme l'alumine dopée au nitrate d'argent ou un gel de silice

– L'atmosphère du laboratoire et les gaz utilisés peuvent souiller les échantillons

– Un grand nombre de colonnes capillaires peuvent être utilisées. On peut citer OV101, SE54 et CPSil5.

10.24.2 Organophosphorés (et organothiophosphorés) par chromatographie gazeuse

Certains de ces insecticides sont interdits ou retirés du marché (depuis 2003). La méthode présentée repose sur la chromatographie gazeuse d'un extrait au dichlorométhane. Elle permet de doser les pesticides organophosphorés, notamment le parathion et le méthylparathion dans les eaux potables, naturelles et résiduaires. Cette méthode permet également de doser certains pesticides organo-azotés de type triazines (cf. § A-10.24.3).

■ Principe

Après extractions successives par un solvant moyennement polaire (dichlorométhane, mélange éther de pétrole/éther éthylique), l'extrait concentré,

séché et éventuellement purifié est analysé par chromatographie gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme alcaline (NPD) ou couplée à la spectrométrie de masse.

Les laboratoires annoncent des limites de détection comprises entre 10 et 20 ng/L.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre (ou plus) en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Ajuster le pH entre 3,5 et 4,5. Conserver les flacons à l'obscurité, y compris pendant le transport. Pratiquer l'extraction si possible immédiatement (dans les 24 h) car certains composés organophosphorés s'hydrolysent rapidement. Les extraits séchés peuvent être conservés pendant un ou deux mois, à 4 °C.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;

– Ampoules à décanter en verre de 1 litre avec robinet en PTFE ;

– Flacons de concentration, avec septum en PTFE ;

– Microseringues ;

– Bain thermostaté ;

– Évaporateur rotatif sous vide ou tout autre système d'évaporation ;

– Colonnes de verre pour purification par adsorption désorption ;

– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur NPD ou couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;

– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;

– Dichlorométhane (ou mélange en parts égales d'éther de pétrole et d'éther éthylique) ;

– Acétone ;

– Acétonitrile ;

– Sulfate de sodium anhydre obtenu soit par chauffage à 400-500 °C pendant 4 heures, soit par lavage à l'éther de pétrole, puis séchage en deux étapes (sous hotte ventilée puis à 110 °C) ;

– Solutions mères étalon à 100 à 500 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié		10 ou 50 mg
Acétone	*q.s.p.*	100 mL

Composés organo-phosphorés dosables par CG

Noms usuels	Nom chimique IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Fragments m/z	Ordre d'élution(*)
Azinphos (-éthyl)	*S*-3,4-dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-ylmethyl *O, O*-diethyl phosphorodithioate	$C_{12}H_{16}N_3O_3PS_2$ (2642-71-9)	132, 160	22
Azinphos méthyl	*S*-3,4-dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-ylmethyl *O, O*-dimethyl phosphorodithioate	$C_{10}H_{12}N_3O_3PS_2$ (86-50-0)	132, 160	20
Bromophos (-éthyl)	*O*-4-bromo-2,5-dichlorophenyl *O, O*-diethyl phosphorothioate	$C_{10}H_{12}BrCl_2O_3PS$ (4824-78-6)	303, 331	17
Bromophos méthyl	O, O-Dimethyl O- (2,5-dichloro-4-bromophenyl) thiophosphate	$C_8H_8BrCl_2O_3PS$ (2104-96-3)	331, 125	15
Chlorphenothion				19
Chlorfenvinphos	(*EZ*)-2-chloro-1- (2,4-dichlorophenyl) vinyl diethyl phosphate	$C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$ (470-90-6)	267, 323	16
Chlorphyriphos (-éthyl)	*O, O*-diethyl *O*-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ (2921-82-2)	197, 314	13
Chlorphyriphos méthyl	*O, O*-dimethyl *O*-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate	$C_7H_7Cl_3NO_3PS$ (5598-13-0)	286, 125	7
Diazinon	*O, O*-diethyl *O*-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ (333-41-5)	137, 179	5
Dichlorvos	2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate	$C_4H_7Cl_2O_4P$ (62-73-7)	109, 185	1
Diméthoate	*O, O*-dimethyl *S*-methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate ou 2-dimethoxyphosphinothioylthio-*N*-methylacetamide	$C_5H_{12}NO_3PS_2$ (60-51-5)	87, 125	3
Fenithrotion	*O, O*-dimethyl *O*-4-nitro-*m*-tolyl phosphorothioate	$C_9H_{12}NO_5PS$ (122-14-5)	260, 277	8
Fenthion	*O, O*-dimethyl *O*-4-methylthio-*m*-tolyl phosphorothioate	$C_{10}H_{15}O_3PS_2$ (55-38-9)		11
Malathion	diethyl (dimethoxyphosphinothioylthio) succinate ou *S*-1,2-bis (ethoxycarbonyl) ethyl *O, O*-dimethyl phosphorodithioate	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$ (121-75-5)	173, 125	10
Mevinphos	Methyl 3-[(dimethoxyphosphinyl)oxy]–2 butenoate	$C_7H_{13}O_6P$ (7786-34-7)	127,192	2
Parathion (éthyl)	Thiophosphate de *o, o* diéthyle et de *o*-4-nitrophényle	$C_{10}H_{14}NO_5PS$ (56-38-2)	–	12
Parathion méthyl	*O, O*-dimethyl *O*-4-nitrophenyl phosphorothioate	$C_8H_{10}NO_5PS$ (298-00-0)	109,125	6
Phosalone	*S*-6-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-1,3-benzoxazol-3-ylmethyl *O, O*-diethyl phosphorodithioate	$C_{12}H_{15}ClNO_4PS_2$ (2310-17-0)	182, 367	21

Noms usuels	Nom chimique IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Fragments m/z	Ordre d'élution(*)
Propetamphos	(*RS*)- [(*E*)-*O*-2-isopropoxycarbonyl-1-methylvinyl *O*-methyl ethyl-phosphoramidothioate]	$C_{10}H_{20}NO_4PS$ (31218-83-4)	–	4
Triadimefon	(*RS*)-1- (4-chlorophenoxy)-3,3-dimethyl-1- (1*H*-1,2,4-triazol-1 -yl) butan-2-one	$C_{14}H_{16}ClN_3O_2$ (43121-43-3)	57, 208	14
Triazophos	*O, O*-diethyl *O*-1-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl phospho-rothioate	$C_{12}H_{16}N_3O_3PS$ (24017-47-8)	–	18

(*) Ordre d'élution sur colonne capillaire apolaire (DB1, OV1, SE30,…) sous He.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Étalonnage par injection directe

Préparer juste avant utilisation, des dilutions dans le solvant d'extraction (dichlorométhane q.s.p. 100 mL) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (10 µg/L à 1 mg/L).

Étalonnage par extraction liquide-liquide

La procédure peut être étalonnée dans son ensemble (à faire de temps en temps) en dopant des solutions aqueuses d'eau ultra-pure. Préparer des solutions d'étalons externes dans l'acétone de façon à ce qu'un très faible volume (quelques dizaines ou centaines de µL) de ces solutions dans 1 litre d'eau conduise à une concentration comprise entre 10 et 1 000 ng/L de substance de référence dans l'eau. Préparer ces solutions le jour même de l'analyse. Les traiter ensuite de la même façon que les échantillons à analyser.

Mode opératoire

Extraction liquide-liquide

Verser dans une ampoule à décanter de 2 litres, 1 litre d'échantillon (préalablement acidifié) et 50 mL de dichlorométhane. Récupérer la phase organique et répéter l'extraction. Une autre méthode consiste à extraire avec deux fois 100 mL du mélange (à parts égales) éther de pétrole/éther diéthylique, puis avec 2 fois 50 mL de dichlorométhane. Traiter chaque fraction avec environ 5 g de sulfate de sodium anhydre (pendant 10 à 15 minutes).

Purification

Cette étape n'est pas toujours nécessaire, sauf dans le cas des eaux résiduaires ou naturelles contenant des matières organiques, selon l'une des méthodes suivantes :

1) *Chromatographie sur florisil.* Introduire dans une colonne de verre de 1,1 cm de diamètre intérieur, 2,5 g de sulfate de sodium anhydre, 4 g de silicate de magnésium activé et une nouvelle couche de sulfate de sodium anhydre. Laver la colonne avec 15 mL d'éther de pétrole. Introduire l'extrait brut concentré à 10 mL environ, verser 40 mL d'éther de pétrole, utiliser les premiers mL pour rincer le récipient contenant l'extrait.

Éliminer l'effluent, éluer avec 60 mL d'acétone, recueillir l'éluat et l'évaporer juste à siccité. Reprendre le résidu par du méthanol anhydre, rincer les parois du tube, soit E cet éluat.

L'éther de pétrole rejeté contient essentiellement des hydrocarbures, du soufre et des composés soufrés.

L'éluat E peut contenir les organophosphorés suivants : bromophos, carbophénothion,chlorpyrifos, diazinon, dichlorvos, diéthion, diméthoate, fénitrothion, fenchlorfos, fenthion, fonofos, isochlorthion, malathion, parathion, parathion méthyl, azinphos méthyl et éthyl, phosalone.

Concentrer l'éluat par évaporation sous jet d'air froid dans un tube conique de 15 mL.

Ajuster le volume à 5 mL pour un premier essai puis concentrer à 1 mL. Injecter 2 à 20 µL dans un détecteur à photométrie de flamme et 1 à 2 µL avec un détecteur à ionisation de flamme alcaline.

2) *Purification par partage acétonitrile-éther de pétrole.* Verser l'extrait brut concentré à 10 mL dans une ampoule à décantation de 125 mL, rincer le bécher ayant contenu l'extrait brut par 20 mL d'acétonitrile saturé d'éther de pétrole et les verser dans l'ampoule. Agiter fortement puis laisser les phases se séparer. Recueillir la phase acétonitrile dans une ampoule à décantation de 250 mL ; épuiser à nouveau la phase éthérée par 10 mL d'acétonitrile, l'ajouter au contenu de l'ampoule, verser dans l'ampoule 120 mL d'eau déionisée et 5 mL de solution saturée de chlorure de sodium. Extraire 2 fois par 50 mL de mélange à parties égales d'éther de pétrole et d'éther éthylique. Dessécher le mélange éluant sur du sulfate de sodium anhydre et le concentrer à 1 mL soit l'extrait A. Épuiser la phase aqueuse deux fois par 50 mL de dichlorométhane. Sécher les extraits sur du sulfate de sodium anhydre et évaporer à sec. Reprendre le résidu par 1 mL de méthanol et quelques mL d'éther de pétrole. Transvaser en tube conique gradué de 15 mL et concentrer à 1 mL, soit B l'extrait ainsi obtenu. Il contient les composés hydrosolubles tels que diméthoate, ométhoate et oxons. Réserver l'extrait A à la recherche générale des organophosphorés.

Concentration

Lorsque l'extraction est effectuée seulement avec du dichlorométhane, concentrer l'extrait séché jusqu'à 5 ou 10 mL précisément. Lorsque l'extraction est effectuée avec les deux solvants différents, évaporer tout d'abord à sec l'extrait au dichlorométhane, puis ajouter la fraction étherée pour finalement la concentrer à 5 ou 10 mL précisément.

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne apolaire avec gradient de température de 30 °C à environ 180 °C. L'ordre d'élution des composés organophosphorés sera proche de celui indiqué dans le tableau ci-dessus.

Remarques

– Les agents de surface et complexants peuvent gêner l'étape d'extraction, ainsi que les matières en suspension.

– Les limites de détection sont comprises entre 10 à 1 000 ng/L.

10.24.3 Triazines par chromatographie gazeuse

Le groupe des triazines auquel appartiennent l'atrazine et la simazine sont des herbicides (désherbant sélectif) qui comportent tous un hétérocycle triazinique. La pollution des ressources en eau par les triazines depuis plusieurs décennies à entraîner, en France, la multiplication des contrôles des eaux souterraines et des eaux de surface. Depuis l'interdiction de l'utilisation de ces herbicides, leurs concentrations dans les eaux diminuent nettement mais leur contrôle est toujours fréquent. La méthode par chromatographie gazeuse après extraction liquide-liquide ou liquide-solide est comme pour les autres pesticides, longue et onéreuse. C'est celle qui est décrite ici. Elle permet également de doser les métabolites et/ou sous-produits d'oxydation de l'atrazine (deséthylatrazine, desisopropylatrazine et hydroxyatrazine) ainsi que certains autres pesticides organo-azotés de type amide et aniline substituées. Il faut noter que les pesticides organophosphorés sont dosés par une méthode semblable (cf. § A-10.24.2).

Pour les triazines et métabolites, la méthode par chromatographie liquide haute performance après extraction liquide-solide est plus simple (cf. § A.10.24.4). Enfin, le développement dans le commerce de kits de recherche et de dosage offre un intérêt (rapidité, coût inférieur) mais il n'existe pas de méthodes normalisées.

■ Principe

Après extractions successives par un solvant moyennement polaire (dichlorométhane, mélange éther de pétrole/éther éthylique), l'extrait concentré, séché et éventuellement purifié est analysé par chromatographie gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme alcaline (NPD) ou couplée à la spectrométrie de masse.

L'extraction solide-liquide peut être également utilisée en adsorbant les pesticides sur un solide de type RP-C18 de même type que les phases inverses de HPLC.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre (ou plus) en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Ajuster le pH entre 6 et 9. Conserver les flacons à l'obscurité, y compris pendant le transport. Pratiquer l'extraction si possible immédiatement (dans les 24 h) car certains composés peuvent s'hydrolyser rapidement. Les extraits séchés peuvent être conservés pendant un ou deux mois, à 4 °C.

□ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;
– Ampoules à décanter en verre de 2 litres avec robinet en PTFE ;
– Flacons de concentration avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;
– Évaporateur rotatif sous vide ou tout autre système d'évaporation ;
– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur NPD ou couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;

– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;

– Dichlorométhane ;

– Acétone (ou acétate d'éthyle) ;

– Méthanol ;

– Sulfate de sodium anhydre obtenu soit par chauffage à 400-500 °C pendant 4 heures ;

– Cartouches RP-C18 disponibles dans le commerce ;

– Solutions mères étalons à 100 à 500 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié		10 ou 50 mg
Solvant polaire (acétone, acétate d'éthyle ou méthanol)	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions étalons intermédiaires à 0,1 mg/L dans le même solvant que la solution mère (à conserver en congélateur).

Composés organo-azotés dosables par CG

Noms usuels	Nom chimique IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Fragments m/z	Ordre d'élution(*)	Limites de détection(**)
Triazines					
Atrazine	1-chloro-3éthylamino-5-isopropylamino-2,4,6-triazine	$C_8H_{14}ClN_5$ (1912-24-9)	217, 215, 200	6	6 ng/L
Cyanazine	2- (4-chloro-6-ethylamino-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-methylpropiononitrile	$C_9H_{13}ClN_6$ (21725-46-2)	240, 225, 172	11	6 ng/L
Déséthylatrazine	2-Amino-4-chloro-6-(isopropylamino)-1,3,5-triazine	$C_6H_{10}ClN_5$ (6190-65-4)	172, 187	2	6 ng/L
Désisopropylatrazine	2-amino-4-chloro-6-(ethylamino)-*s*-triazine	$C_5H_8ClN_5$ (1007-28-9)		1	12 ng/L
Propazine	6-chloro-N^2, N^4-diisopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_9H_{16}ClN_5$ (139-40-2)	229, 214, 172	7	6 ng/L
Sébuthylazine	(*RS*)-N^2-*sec*-butyl-6-chloro-N^4-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_9H_{16}ClN_5$ (7286-69-3)	229, 202, 200	–	–
Simazine	6-chloro-N^2, N^4-diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_7H_{12}ClN_5$ (122-34-9)	201, 186, 173	5	6 ng/L
Terbutylazine	N^2-*tert*-butyl-6-chloro-N^4-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_9H_{16}ClN_5$ (5915-41-3)	229, 214, 173	8	6 ng/L

Noms usuels	Nom chimique IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Fragments m/z	Ordre d'élution(*)	Limites de détection(**)
Autres pesticides organo-azotés					
Diméthoate	O, O-dimethyl S- [2-(methylamino)-2-oxoethyl] dithiophosphate	$C_5H_{12}NO_3PS_2$ (60-51-5)	87, 125	4	6 ng/L
Isochloridazone		$C_{10}H_8ClN_3O$ (1698-60-8)	–	–	–
Fenpropimorphe	*cis*-4- [(*RS*)-3- (4-*tert*-butylphenyl)-2-methylpropyl]-2,6-dimethylmorpholine	$C_{20}H_{33}NO$ (67564-91-4)	128, 110	12	15 ng/L
Métazachlore	2-chloro-*N*- (pyrazol-1-ylmethyl) acet-2', 6'-xylidide	$C_{14}H_{16}ClN_3O$ (67129-08-2)	209, 133, 81	13	6 ng/L
Métolachlore	2-chloro-*N*- (6-ethyl-*o*-tolyl)-*N*- [(1*RS*)-2-methoxy-1-methylethyl] acetamide or (a*RS*, 1*RS*)-2-chloro-6-'-ethyl-*N*- (2-methoxy-1-methylethyl) acet-*o*-toluidide	$C_{15}H_{22}ClNO_2$ (51218-45-2)	162, 238, 240	10	6 ng/L
Pendiméthaline	*N*- (1-ethylpropyl)-2,6-dinitro-3,4-xylidine	$C_{13}H_{19}N_3O_4$ (40487-42-1)	261, 252, 162	14	6 ng/L
Trifluraline	α,α,α-trifluoro-2,6-dinitro-*N, N*-dipropyl-*p*-toluidine	$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$ (1582-09-8)	335, 306, 264	5	6 ng/L
Vinclozoline	(*RS*)-3- (3,5-dichlorophenyl)-5-methyl-5-vinyl-1,3-oxazolidine-2,4-dione	$C_{12}H_9Cl_2NO_3$ (50471-44-8)	285, 212, 198	9	15 ng/L

(*) Ordre d'élution sur colonne capillaire apolaire (DB 5, CPSil8CB/MS,…) sous He.
(**) Limite de détection GC/MS par extraction liquide-liquide.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer juste avant utilisation, des dilutions dans le même solvant que celui utilisé pour les solutions étalons (q.s.p. 100 mL) couvrant la gamme de concentrations souhaitée (maximum 100 µg/L). Vérifier fréquemment la stabilité des solutions.

Mode opératoire

Extraction liquide-liquide

La première extraction est préférablement effectuée directement dans le flacon d'étalonnage sur 1 litre d'échantillon, avec 100 mL de dichlorométhane. Après agitation, si possible sur agitateur magnétique (10 à 20 minu-

tes), verser l'ensemble du contenu dans une ampoule à décanter de 2 litres. Récupérer la phase organique et répéter deux fois l'extraction avec 50 mL de dichlorométhane, de préférence dans le flacon d'échantillonnage.

Extraction solide-liquide

Utiliser de l'ordre de 1 à 2 grammes de matériau adsorbant par litre de solution. Après avoir lavé le matériau avec le solvant utilisé pour les solutions étalons, laver à nouveau avec de l'eau ultra-pure et filtrer à un débit de l'ordre de 5 à 15 ml/min un volume précis de l'échantillon (prévoir un volume de 250 à 1 000 mL). Sécher la cartouche avec l'hélium (ou l'azote) et éluer avec 1 mL à 5 ml de solvant (il est fréquemment mentionné 1 mL pour 500 mg de matériau).

Concentration

Sécher la totalité de l'extrait organique par 10 g de sulfate de sodium anhydre. Concentrer l'extrait séché avec le système d'évaporation choisi jusqu'à 5 ou 10 mL, puis continuer l'évaporation (presque jusqu'à sec) et compléter précisément à 1 mL avec de l'acétone.

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne apolaire de type copolymère de diphényle-diméthylpolysiloxane (DB5, DB1701, CPSil8CB/MS) avec gradient de température de 80 °C à environ 200 °C. L'ordre d'élution des composés sera proche de celui indiqué dans le tableau ci-dessus.

Remarques

– Des kits prêts à l'emploi existent actuellement dans le commerce. Ils permettent la recherche et le dosage des triazines et utilisent la méthode immunoenzymatique Elisa (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Ces kits offrent deux possibilités :

- une simple mise en évidence de la présence de triazine au moyen de tests en tubes ;
- le dosage avec des kits d'étalonnage utilisant un test sur microplaques comprenant les réactifs ; les courbes d'étalonnage avec lecture des résultats sur microplaque avec un spectromètre spécialement adapté.

La méthode est simple, rapide, d'un prix de revient raisonnable. Ces tests sont très sensibles, leur répétabilité est très bonne à condition qu'ils soient utilisés par des techniciens rodés à la méthode.

– La nature biologique des réactions développées est très sensible aux variations de température. Il est donc indispensable de préparer une courbe d'étalonnage à chaque série de tests. De même, le résultat des tests qualitatifs est exprimé de préférence par le rapport (% Bo) entre l'absorbance de la solution d'étalonnage ou de l'échantillon et celle du témoin :

$$\% \text{ Bo} = \frac{\text{Unités d'absorbance de l'échantillon}}{\text{Unités d'absorbance du témoin}} \times 100$$

Les variations remarquées dans les courbes d'étalonnage de lots de kits différents sont ainsi éliminées.

– Conserver les kits en réserve à 4 °C.

– Par la rapidité de leur réponse, ces tests sont indispensables en cas de pollution accidentelle ; l'inconvénient est qu'ils ne s'adressent pour le moment qu'à un nombre limité de pesticides.

10.24.4 Phénylurées (et triazines) par chromatographie liquide

Le groupe des herbicides phénylurées (ou urées substituées) est, comme les triazines, fréquemment recherché dans les eaux naturelles et dans l'eau potable. La méthode la plus communément utilisée consiste à traiter l'échantillon par extraction liquide-solide puis à les identifier et les quantifier par chromatographie liquide haute performance (CLHP) munie d'un détecteur UV ou (mieux) couplée à la spectrométrie de masse.

■ Principe

L'extraction liquide-solide permet d'extraire les composés mentionnés dans le tableau ci-dessous qui sont ensuite élués par un solvant organique polaire, puis analyser par CLHP (cf. § A-10.1.2).

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre (ou plus) en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Ajuster le pH entre 6 et 9. L'extraction doit être pratiquée si possible immédiatement après le prélèvement. Si nécessaire, conserver les flacons à l'obscurité, à 4 °C, y compris pendant le transport.

☐ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;
– Système de filtration sur membrane de microfiltration ;
– Flacons de concentration avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;
– Évaporateur rotatif sous vide ou tout autre système d'évaporation ;
– Chromatographie liquide haute performance avec détecteur spectrométrique (ou photométrique) UV, voire détecteur à barrette de diodes. L'utilisation d'un appareil LC/MS est recommandée.

☐ Réactifs

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce ne contenant aucune substance absorbant en UV aux longueurs d'onde utilisées) ;
– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;
– Hélium ou azote de haute pureté (pour séchage, concentration et dégazage) ;
– Méthanol (ou acétonitrile, voire acétone) ;
– Cartouches RP-C18 disponibles dans le commerce ;
– Solutions mères étalons à 100 à 500 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié		10 ou 50 mg
Solvant polaire (méthanol, acétonitrile ou acétone)	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions étalons intermédiaires à 1 à 5 mg/L dans le même solvant que la solution mère (à conserver en congélateur) ;
– Solutions tampons pour le gradient d'élution ;
– Acétate d'ammonium (ou de sodium) 20 mM (à préparer le jour d'utilisation).

Composés organo-azotés dosables par CLHP

Noms usuels	Nom chimique IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Transition de quantification	Ordre d'élution(*) (**)	Limites de détection(***)
Phénylurées					
Chlortoluron	3- (3-chloro-*p*-tolyl)-1,1-dimethylurea	$C_{10}H_{13}ClN_2O$ (15545-48-9)	213 > 72	7* (7) **	15 ng/L
Diuron	3- (3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$ (330-54-1)	233 > 72	10 (12)	15 ng/L
Isoproturon	3- (4-isopropylphényl)-1,1-diméthylurée	$C_{12}H_{18}N_2O$ (34123-59-6)	207 > 72	11 (11)	15 ng/L
Linuron	3- (3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$ (330-55-2)	249 > 182	16 (15)	15 ng/L
Méthabenthiazuron	1- (1,3-benzothiazol-2-yl)-1,3-dimethylurea ou 1-benzothiazol-2-yl-1,3-dimethylurea	$C_{10}H_{11}N_3OS$ (18691-97-9)	222 > 150	6 (10)	15 ng/L
Métobromuron	3- (4-bromophenyl)-1-methoxy-1-methylurea	$C_9H_{11}BrN_2O_2$ (3060-89-7)	259 > 170	12 (8)	30 ng/L
Métoxuron	3- (3-chloro-4-methoxyphenyl)-1,1-dimethylurea	$C_{10}H_{13}ClN_2O_2$ (19937-59-8)	229 > 72	2 (2)	15 ng/L
Monolinuron	3- (4-chlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea	$C_9H_{11}ClN_2O_2$ (1746-81-2)	215 > 126	9 (6)	30 ng/L
Triazines					
Atrazine	1-chloro-3éthylamino-5-isopropylamino-2,4,6-triazine	$C_8H_{14}ClN_5$ (1912-24-9)	216 > 174	8 (9)	9 ng/L
Cyanazine	2- (4-chloro-6-ethylamino-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-methylpropiononitrile	$C_9H_{13}ClN_6$ (21725-46-2)	241 > 214	5 (3)	15 ng/L
Déséthylatrazine	2-Amino-4-chloro-6-(isopropylamino)-1,3,5-triazine	$C_6H_9ClN_5$ (6190-65-4)	188 > 146	1 (1)	9 ng/L
Désisopropylatrazine	2-amino-4-chloro-6-(ethylamino)-*s*-triazine	$C_5H_8ClN_5$ (1007-28-9)			9 ng/L
Hexazinone	3-cyclohexyl-6-dimethylamino-1-methyl-1,3,5-triazine-2,4 (1*H*, 3*H*)-dione	$C_{12}H_{20}N_4O_2$ (51235-04-2)		3	
Sébuthylazine	(*RS*)-N^2-*sec*-butyl-6-chloro-N^4-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_9H_{16}ClN_5$ (72866-69-3)		14 (14)	
Simazine	6-chloro-N^2, N^4-diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_7H_{12}ClN_5$ (122-34-9)	202 > 124	4 (4)	9 ng/L
Terbutylazine	N^2-*tert*-butyl-6-chloro-N^4-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$C_9H_{16}ClN_5$ (5915-41-3)	230 > 174	15 (16)	9 ng/L

Noms usuels	Nom chimique IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Transition de quantification	Ordre d'élution(*) (**)	Limites de détection(***)
Anilide substituée					
Métazachlore	2-chloro-*N*- (pyrazol-1-yl-methyl) acet-2′, 6′-xylidide	$C_{14}H_{16}ClN_2O_3$ (67129-08-2)	278 > 210	13 (13)	
Métolachlore	2-chloro-*N*- (6-ethyl-*o*-tolyl)-*N*- [(1*RS*)-2-methoxy-1-methylethyl] acetamide ou (*aRS*, 1*RS*)-2-chloro-6′-ethyl-*N*- (2-methoxy-1-methylethyl) acet-*o*-toluidide	$C_{15}H_{22}ClNO_2$ (51218-45-2)	284 > 252	17 (17)	30 ng/L

(*) Ordre d'élution sur colonne C18 (3 μm) sous gradient solution tampon/acétonitrile.
(**) Ordre d'élution sur colonne C18 (3 μm) sous gradient solution tampon/méthanol.
(***) Limite de détection LC/MS.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer juste avant utilisation, des dilutions dans le même solvant que celui utilisé pour les solutions étalons (q.s.p. 100 mL) couvrant la gamme de concentrations souhaitées (maximum 100 μg/L). Vérifier fréquemment la stabilité des solutions.

Mode opératoire

Extraction liquide-solide

Utiliser de l'ordre de 1 à 2 grammes de matériau adsorbant par litre d'échantillon. Après avoir lavé le matériau avec le solvant utilisé pour les solutions étalons (5 à 10 volumes de solvant de lavage par volume de matériau), laver à nouveau avec de l'eau ultra-pure (5 à 10 v/v) et filtrer à un débit de l'ordre de 5 à 15 ml/min un volume précis de l'échantillon (prévoir un volume de 250 à 1 000 mL). Sécher la cartouche avec l'hélium (ou l'azote) et éluer avec 1 mL à 5 ml de solvant, selon la quantité de matériau utilisés (il est fréquemment mentionné 1 mL pour 500 mg). Filtrer l'extrait sur une membrane filtrante de porosité 0,2 ou 0,45 μm si nécessaire.

Concentration

Concentrer à sec (ou presque sec) avec le système d'évaporation choisi et reprendre le résidu par de la phase mobile (si possible du début de gradient).

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne CLHP de type C18 (de 3 ou 5 μm) et un gradient d'élution voisin de celui indiqué ci-dessous :

– Éluant I : solution tampon à 2 mM/acétonitrile ou méthanol 75 à 80/25 à 20

– Éluant II : acétonitrile ou méthanol

– Gradients possibles :

- En mode gradient d'élution linéaire de 0 à 10 % de II dans I pendant 20 à 30 minutes, puis en mode isochratique (40 à 60 minutes), puis à nouveau en mode gradient linéaire de 10 à 80-90 % de II dans I pendant 20 à 40 minutes
- En mode gradient d'élution linéaire de 10 % à 40-50 % de II dans I pendant 70 à 80 minutes.

L'ordre d'élution est alors similaire à celui indiqué dans le tableau ci-dessus. La détection est assurée soit par un détecteur à barrette de diodes (DAD) soit par couplage à la spectrométrie de masse (LC/MS)

Remarques

– Attention à la qualité des cartouches à matériaux adsorbants qui peut varier d'un lot à l'autre.

– Certains composés autres que les pesticides recherchés peuvent être retenus et peuvent interférer lors de l'analyse chromatographique. L'utilisation d'un détecteur à barrette de diodes, ou (mieux) un spectromètre de masse permet d'identifier plus précisément les pics.

10.24.5 Acides phénoxyalcanoïques par chromatographie gazeuse

Le groupe des acides phénoxyacétiques auquel appartiennent par exemple le MCPA et le 2,4-D sont des herbicides qui possèdent tous une fonction carboxylique. De par cette fonction, l'analyse chromatographique par phase gazeuse nécessite une estérification préalable. Pour ces composés, c'est la dérivation au diazométhane (transformation de l'acide carboxylique en ester méthylique) qui est conseillée. L'expérimentateur devra prendre toutes précautions pour la manipulation du diazométhane (substance extrêmement toxique et explosive) et s'informer des consignes de sécurité.

Cette méthode permet de doser également les bentazones et les hydroxybenzonitriles.

■ Principe

Après extraction liquide-solide et élution par un solvant organique polaire (méthanol, acétone), l'extrait concentré est traité au diazométhane puis analysé par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Ajuster le pH à 2 avec l'acide chlorhydrique. Conserver les flacons à 4 °C et à l'obscurité, y compris pendant le transport. Pratiquer l'extraction si possible immédiatement (dans les 24 h). Ne pas conserver plus de 3 jours.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;
– Appareillage pour le diazométhane (cf. ci-dessous) ;
– Ampoules à décanter en verre de 2 litres avec robinet en PTFE ;
– Flacons de concentration avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;
– Évaporateur rotatif sous vide ou tout autre système d'évaporation ;
– Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;
– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;
– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;
– Diéthyléther ;
– Ethanol ;
– Acide chlorhydrique (2 M) ;
– Solution d'hydroxyde de potassium (6 M) ;
– Acide acétique en solution aqueuse (10 % volume) ;
– Acétone ;
– Méthanol ;
– Solution de Diazald :

Diazald ou N-méthyl, N-nitroso, 4-toluènesulfonamide		6 g
Diéthyléther		60 mL

– Cartouches RP-C18 disponibles dans le commerce ;
– Solutions mères étalons à 100 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié (esters ou acides)		10 ou 50 mg
Solvant polaire (acétone ou méthanol)	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions étalons intermédiaires à 0,1 mg/L dans le même solvant que la solution mère (à conserver en réfrigérateur).

Esters d'acides phénoxyacétiques dosables par CG

Noms usuels Noms IUPAC	Formule brute (N° CAS)	Fragments (m/z) (*)	Ordre d'élution(**)	Limites détection(***)
Acides phénoxyalcanoïques (esters)				
2,4-D acide (2,4-dichlorophénoxy) acétique	$C_8H_6Cl_2O_3$ (94-75-7)	99, 234, 201	4 ou 5	40 ng/L
2,4-DB acide (2,4-dichlorophénoxy) butanoïque	$C_{10}H_{10}Cl_2O_3$ (94-82-6)	162, 164, 231	9	20 ng/L
2,4-DP ou dichlorprop	$C_9H_8Cl_2O_3$ (120-36-5)	162, 248, 164	3	
MCPP ou mecoprop	C_9H_9ClO (34841-35-5)	169, 228, 230	1	20 ng/L
MCPA acide (méthyl, chlorophénoxy) acétique	$C_9H_9ClO_3$ (94-74-6)	155, 214, 141	2	20 ng/L
MCPB acide (méthyl, chlorophénoxy) butanoïque	$C_{11}H_{13}ClO_3$ (94-81-5)	242, 107, 101	7	20 ng/L
2,4,5-T acide (2,4,5-trichlorophénoxy) acétique	$C_8H_5Cl_3O_3$ (93-76-5)	233, 268, 235	8	40 ng/L
2,4,5-TP ou fenoprop	$C_9H_7Cl_3O_3$ (93-72-1)	196, 198, 282	6	–
Autres pesticides				
Bentazone	$C_{10}H_{12}N_2O_3S$ (25057-89-0)	212, 254, 175	10	–
Bromoxynil	$C_7H_3Br_2NO$ (1689-84-5)	291, 276, 289	4 ou 5	–

(*) Les fragments principaux présentés sont ceux des esters méthyliques des acides phénoxyalcanoïques.
(**) Ordre d'élution sur colonne de faible à moyenne polarité (DB1301, CP624,…) sous He.
(***) Limite de détection par spectrométrie de masse.

■ Solution de diazométhane

La solution de diazométhane peut être préparée dans un appareil de distillation placé dans une sorbonne. Cet appareil comprend un ballon de réaction (par exemple de 250 mL) muni au moins de deux cols, le col vertical étant relié à la colonne de distillation et l'autre col à une ampoule cylindrique. Ce ballon est plongé dans un bain thermostaté ou dans une calotte chauffant. Un réfrigérant assure la liaison entre l'extrémité haute de la colonne de distillation et le ballon de récupération de la solution de diazométhane. Pour des raisons de sécurité, il est conseillé de refroidir ce ballon (bain à 0 °C) et de le relier à deux flacons laveurs (le premier est vide et le second contient la solution aqueuse d'acide acétique). La procédure à suivre peut être la suivante :

1. Introduire :

– dans le ballon de réaction, 10 mL de la solution d'hydroxyde de potassium et 12 à 13 mL d'éthanol,

– dans l'ampoule, la solution de diazald.

2. Chauffer le ballon à 60 °C pendant le temps d'écoulement goutte à goutte de la solution de diazald en recueillant la solution de diazométhane dans le ballon de récupération refroidi.

3. Continuer la distillation avec 10 mL de diéthyléther ajouter goutte à goutte par l'intermédiaire de l'ampoule.

4. Récupérer la solution de diazométhane dans un flacon bouché, ou boucher directement le ballon de récupération (le tout sous la sorbonne) et conserver au congélateur.

Des solutions de diazométhane sont disponibles dans le commerce.

Établissement de la courbe d'étalonnage

ÉTALONNAGE PAR INJECTION DIRECTE

Préparer, juste avant utilisation, des dilutions des solutions étalons intermédiaires des esters dans le même solvant que celui utilisé pour ces solutions étalons (q.s.p. 100 mL) et couvrant la gamme de concentrations souhaitée. Vérifier fréquemment la stabilité des solutions.

ÉTALONNAGE AVEC UTILISATION DU PROTOCOLE COMPLET

Préparer des dilutions, dans l'eau pure, des solutions étalons intermédiaires des acides couvrant la gamme de concentrations souhaitées (maximum à 0,5 μg/L). Appliquer le mode opératoire complet décrit ci-dessous en même temps que les échantillons à analyser.

Mode opératoire

EXTRACTION LIQUIDE-SOLIDE

Utiliser de l'ordre de 1 à 2 grammes de matériau adsorbant par litre de solution. Après avoir lavé le matériau avec du méthanol (5 fois 2 à 3 mL), laver à nouveau avec les mêmes volumes d'eau ultra-pure et filtrer à un débit de l'ordre de 5 à 15 ml/min un volume précis de l'échantillon acidifié à pH 2 (prévoir un volume de 1 L). Sécher la cartouche avec l'hélium (ou l'azote) et éluer avec 1 mL à 5 ml de solvant (il est fréquemment mentionné 2 mL pour 500 mg de matériau).

CONCENTRATION ET DÉRIVATION AU DIAZOMÉTHANE

Sécher la totalité de l'extrait organique par 10 g de sulfate de sodium anhydre. Concentrer l'extrait séché par évaporation (presque jusqu'à sec). Ajouter environ 0,5 mL de solution de diazométhane et laisser agir environ 1 heure à l'obscurité (la solution doit rester jaune). Évaporer (presque jusqu'à sec) et dissoudre le résidu dans un volume précis d'acétone.

DOSAGE CHROMATOGRAPHIQUE

Utiliser une colonne de polarité faible à moyenne, de type cyanopropyl-phényl-diméthyl siloxane, avec gradient de température de 60 °C à environ 200 °C à 5 °C par minute. L'ordre d'élution des composés sera proche de celui indiqué dans le tableau ci-dessus.

Remarques

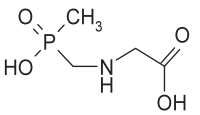
– Les matériaux adsorbants du commerce peuvent être de qualité variables, notamment d'un lot à l'autre.

– Pour l'élution par le méthanol des cartouches enrichies de composés à analyser, il est préférable de commencer en remplissant la cartouche de solvant et le laisser au contact pendant 10 minutes avant d'éluer au débit indiqué.

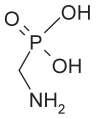
– La dérivation peut être effectuée au MTBSTFA à la place du diazométhane.

10.24.6 Glyphosate et AMPA par chromatographie liquide

Le glyphosate (ou N- (phosphonométhyl) glycine), de formule brute $C_3H_8NO_5P$ (n° CAS 1071-83-6) est l'herbicide qui, aujourd'hui, remplace les triazines notamment l'atrazine. Actuellement, ce composé fait partie des pesticides les plus retrouvés dans les eaux naturelles. Son métabolite principal est l'acide aminométhylphosphorique (ou AMPA), de formule brute CH_6NO_3P (n° CAS 1066-51-9).



Glyphosate



AMPA

Deux méthodes de dosage sont principalement décrites dans les normes :

– la première consiste en une analyse par chromatographie ionique suivie dérivation post-colonne par l'orthophatalaldéhyde et le trifluor en milieu basique et détection par fluorescence (Norme allemande DIN 38407-22),

– la seconde issue de la norme NF ISO 21458 et décrite ci-dessous, est la plus utilisée.

Les deux méthodes permettent théoriquement de quantifier le glyphosate et l'AMPA avec une limite de quantification de 0,05 μg/L.

■ Principe

Le glyphosate et l'AMPA sont dérivés par du 9-fluorenylméthyl chloroformate (FMOC-Cl) en solution alcaline, suivie d'une analyse par HPLC couplée à un détecteur de fluorescence.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons en polyoléfine d'environ 50 mL. Ces flacons doivent être remplis totalement. Dans le cas d'eaux traitées, ajouter environ 1 mg de thiosulfate de sodium. Conserver les flacons à 4 °C et à l'obscurité pendant une semaine ou congelés jusqu'à un mois.

□ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en polyoléfine d'environ 50 mL ;

– Flacons de dérivation en verre avec septum en PTFE, d'environ 20 mL à usage unique ;

– HPLC couplée à un détecteur fluorimétrique.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;

– Acétonitrile ;

– Ether diéthylique ;

– Étalon certifié de glyphosate et d'AMPA ;

– Solutions mères de glyphosate et d'AMPA à 1,0 g/L. Les solutions filles peuvent être conservées à 4 °C pendant une semaine ;

– Solution d'hydroxyde de potassium (3 M) ;

– Solution de thiosulfate de sodium (0,1 M) ;

– Solution de dihydrogénophosphate de potassium (0,05 M, pH 5,4) ;

– Le pH est ajusté par la solution d'hydroxide de potassium. Peut être conservé une semaine au frais. ;

– Solution d'acide oxalique à 100 g/L ;

– Solution de FMOC à 1 mg/L. Peut être conservée deux semaines à 4 °C ;

– Solution de tétraborate de sodium à 0,05 M. Peut être conservée un mois à 4 °C.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

ÉTALONNAGE EXTERNE

À chaque série d'analyse, évaluer la courbe d'étalonnage avec 5 solutions dont les concentrations sont réparties dans la gamme, généralement entre 0,05 μg/L et 2 μg/L. Ces solutions subissent l'ensemble du protocole opératoire et sont préparées dans une eau de référence (eau de composition stable et connue, proche de la matrice des échantillons).

ÉTALONNAGE INTERNE

Établir une fonction d'étalonnage pour chaque molécule avant chaque série d'analyse en ajoutant un étalon interne en quantité connue, avant dérivation, aux cinq solutions d'étalonnage décrites dans le paragraphe précédent.

Les étalons internes conseillés sont les suivants :

– Acide cystéique L-monohydraté ($C_3H_7NO_5S$, H_20, CAS : 23537-25-9) ;

– O-phospho-L-sérine ($C_3H_8NO_6P$, CAS 407-41-0) ;

– Acide 2-aminoéthylphosphorique ($C_2H_8NO_3P$, CAS 2041-14-7).

L'étalonnage interne est conseillé car il limite les erreurs dues à l'injections, aux imprécisions de volumes prélevés et aux effets de matrice.

■ Mode opératoire

DÉRIVATION

Prélever un aliquot de 3 mL de l'échantillon. En cas d'étalonnage interne, ajouter l'étalon afin que sa concentration soit d'environ 0,5 μg/L.

Ajouter 0,5 mL de tampon borate puis 3 mL d'éther diéthylique. Après avoir laissé reposer, prélever 1,5 mL de la phase aqueuse et ajouter 0,25 mL d'acétonitrile puis 0,25 mL de réactif de dérivation (FMOC-Cl). Laisser réagir à température ambiante pendant 60 minutes.

Ajouter 2 mL d'éther diéthylique et mélanger pendant 2 minutes. Transférer une partie de la phase aqueuse dans les flacons d'analyse de chromatographie. L'extrait aqueux peut être stocké avant analyse jusqu'à deux semaines à 4 °C ou 4 semaines dans un congélateur.

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne polaire, par exemple de type NH_2 (250x4,6mm ; 5 μm).

La phase mobile est composée de 300 mL d'acétonitrile et de 700 mL de solution tampon de dihydrogénophosphate de potassium ; son débit est de 1 mL/min.

La température du four chromatographique est de 35 °C.

Les longueurs d'onde du détecteur sont les suivantes : λ_{exc} 260nm, λ_{emi} 310 nm.

L'élution des composés sera proche de 5 minutes pour l'AMPA et de 15 minutes pour le glyphosate.

Remarques

– Il est possible d'utiliser la méthode des ajouts dosés pour quantifier les échantillons. Les niveaux de dopage conseillés des échantillons sont de 0,5 et de 1 μg/L.

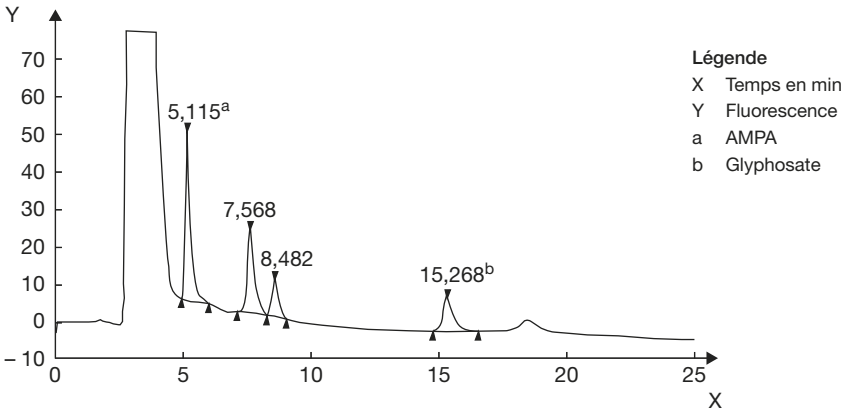
– La séparation chromatographique peut également être réalisée avec une colonne apolaire de type C18. Dans ce cas, la phase mobile est constituée d'eau tamponnée et d'acétonitrile.

– Un blanc doit être effectué avec l'eau servant à la préparation de la solution de dopage et des étalons pour procédure complète en utilisant la même verrerie de laboratoire et les mêmes appareillages.

Méthodes de référence

Norme internationale NF ISO 21458.

Norme allemande DIN 38407-22.



Chromatogramme du Projet de norme internationale ISO/DIS 21458

10.24.7 Aminotriazole par chromatographie gazeuse

L'aminotriazole (ou amitrole ou 3-amino-1H-1,2,4-triazole, $C_2H_4N_4$, n° CAS 61-82-5) est un herbicide de plus en plus utilisé, depuis le retrait des triazines. Il est donc fréquemment retrouvé dans les eaux naturelles.

Une méthode de dosage consiste à dériver l'aminotriazole par l'anhydride acétique à pH 8, les échantillons sont extraits par l'acétate d'éthyle puis par le dichlorométhane. L'extrait est séché et concentré puis injecté en chromatographie gazeuse sur colonne capillaire polaire couplée à un détecteur thermoionique.

Cette méthode permet de quantifier l'aminotriazole à une concentration minimale de 0,05 µg/L dans les eaux naturelles.

10.24.8 Méthodes multi-résidus par chromatographie gazeuse

Les laboratoires ont mis au point des méthodes multi-résidus de dosage des pesticides qui reposent :

– soit sur une extraction liquide-liquide et analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,

– soit sur une extraction solide-liquide et analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

Ces méthodes sont propres à chaque laboratoire et présentent des limites de détection qui sont comprises entre 5 et 30 ng/L.

■ Principe

Après extraction liquide-liquide à pH neutre puis à pH acide par le dichlorométhane, l'extrait séché et concentré est injecté en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Vérifier que le pH est compris entre 6 et 9, sinon l'ajuster. Conserver les flacons à 4 °C et à l'obscurité, y compris pendant le transport. Pratiquer l'extraction de préférence le plus vite possible. Ne pas conserver plus de 10 jours.

□ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;

– Ampoules à décanter en verre de 1 à 2 litres avec robinet en PTFE ;

– Flacons de concentration avec septum en PTFE ;

– Microseringues ;

– Évaporateur rotatif sous vide ou tout autre système d'évaporation ;

– Dispositif de concentration des extraits sous courant d'azote ou d'hélium avec bain thermostaté ;

– Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (en technologie « ion trap »).

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;
– Eau ultra-pure;
– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;
– Dichlorométhane (chlorure de méthylène) ;
– Acétone ;
– Acide chlorhydrique à 37 % ;
– Sulfate de sodium anhydre ;
– Solution d'acide chlorhydrique (2 M) ;
– Solution d'hydroxyde de potassium (6 M) ;
– Solutions mères étalons à 100 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié		10 mg
Acétone	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions filles étalons (à conserver en congélateur) :

Solution mère		3 mL
Dichlorométhane	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions de dopage (à conserver en congélateur) :

Solution mère		0,2 mL
Acétone	*q.s.p.*	100 mL

Pesticides dosables par méthode multi-résidus (CG)

Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Fragments (m/z)[b]	Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Fragments (m/z)[b]
Dichlorvos* Trichlorfon*	109, 185 109, 145	Triadimenol	168, 112, 128
Dichlobenil	100, 171	Folpel* Procynidone*	104, 260 96, 283
Mevinphos	127, 192	Haloxyfop R méthyl	316, 375
Oxydémeton méthyl	88, 60, 142, 109	Bromophos (éthyl)* Methidathion*	303, 331 145, 85, 125
Etoprophos	158, 243	Pyrifenox	262, 187
Déséthylsimazine	158, 145, 173, 68	Vamidothion	87 , 145
Déséthylatrazine* Trifluraline*	172, 187 306, 264, 290	Endosulfan	195, 241
Benfluraline	292, 264, 276, 318	Napropamide	100, 128, 271, 171
Déséthylterbuthylazine* Bromoxynil* Tébutame*	186, 145, 202 277, 88 91, 190, 57	Hexaconazole	214, 175
HCH alpha	181, 219	Oxadiazon* Dieldrine*	175, 258 302, 260 79, 277, 279, 263
Thiométon	88, 125	Fludioxynil	248, 154
Dimethoate	87, 125, 96, 63	Oxyfluorfen	252, 300
Carbofuran* Simazine*	164, 149, 131, 122 201, 186, 173, 138	Fluzilazole* Buprimate* Kresoxim (méthyl)*	233, 206 273, 193 206, 116
Atrazine	200, 202, 173	Cyproconazole* Fluzifop-p-butyl*	222, 139 282, 383

Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Fragments (m/z)[b]	Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Fragments (m/z)[b]
Pentachlorophénol* Lindane* Terbuthylazine* Terbufos*	266, 268 181, 219, 183, 217 214, 173, 229 231, 57, 153, 97	Endrin	263, 245
Propyzamide	173, 145	Endosulfanβ	195, 241
Pyrimethanil* Diazinon*	198, 199 137, 179	Aclonifen	264, 212
Dinosebe	211, 163	Oxadixyl	163, 132, 233, 105
Triallat	268, 270	Bromoxynil octanoate	127, 57
Chlorothalonil	266, 264	Propiconazole* Norflurazon*	259, 173, 191 303, 145, 173, 102
Bénoxacor	120, 259	Clodinafop-propargyl* 4-4′ DDT*	266, 238 235, 165
Desmethryne	213, 198, 171	Hexazinone	171, 83, 128
Phosphamidon	127, 264, 138, 193	Tebuconazole* Diclofop méthyl*	250, 125 253, 281
Metribuzine* Dimethenamide* Dimethachlore*	198, 144, 182 154, 230 134, 197	Propargite* Diflufenicanil*	173, 135, 201, 350 266, 394
Acétochlore	223, 146	Haloxyfop éthoxy éthyl	316, 288
Vinchlozoline	213, 285	Epoxiconazole	192, 138
Méthylparathion	109, 125, 263, 79	Iprodione	314, 187
Carbaryl* Alachlore*	144, 115, 201 188, 160, 238	Phosmet	160, 77, 133
Heptachlor* Métalaxyl*	100, 272, 274, 337 206, 160	Fenoxycarb	116, 88
Fenpropidine	98, 273	Bifenthrine	181, 166
Trimexapac (éthyl)* Terbuthryne*	151, 224 226, 185, 241	Dicofol	251, 139
Mercaptodimethur* Ethofumesate*	168, 153, 109, 225 207, 161	Metconazole* Bifenox*	125, 250 341, 173, 310
Bromacil	205, 207	Flurtamone	120, 333
Ioxynil* Malathion*	371, 117 173, 125, 158, 93	Phosalone	182, 367, 121, 154
Metolachlore* Fenpropimorphe* Aldrine*	162, 238, 240 128, 110 66, 263, 91, 265	Lambda-cyhalothrine	181, 197
Cyanazine* Chlorpyriphos (éthyl)* Parathion (éthyl)*	225, 173, 198, 240 197, 314, 258, 286	Ioxynil octanoate	127, 57
Triademefon	57, 208, 181	Azimphos éthyl	132, 160
Tétraconazole	336, 171	Fenoxaprop-p-éthyl	288, 361
Fluorochloridone* Bentazone*	311, 174, 313 198, 119	Permethrine	183, 163
Bromophos (méthyl)* Pirimophos (éthyl)*	331, 125 333, 318	Fluquinconazole	340, 108
Cyprodinil	224, 225	Cypermethrine	163, 181
Metazachlore* Pendiméthaline*	209, 133, 132, 81 252, 162, 191, 281	Quizalofop éthyl	299, 372
Penconazole	248, 159	Pyridate	206, 207
Heptachlore époxy. (exo)	353, 355	Esfenvalérate* Tau-fluvalinate*	225, 125 250, 252
Tolyfluanide	137, 238	Difenoconazole	323, 265

Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Fragments (m/z)[b]	Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Fragments (m/z)[b]
Heptachlore époxy. (end)* Chlorfenviphos*	253, 289 267, 323	Deltamethrine	253, 181
Fipronyl* Captane*	367, 213 79, 264, 107, 105	Azoxystrobine	345, 388

[a]Ordre d'élution sur colonne de faible à moyenne polarité (DB1301, CP624, …) sous He. Les composés de la première colonne du tableau puis de la deuxième colonne sont élués dans l'ordre annoncé.
[b] Acquisition sur courant ionique total
** Composés co-élués*

Établissement de la courbe d'étalonnage

Étalonnage par injection directe

Préparer, juste avant utilisation, au moins 5 dilutions de la solution étalon fille dans le dichlorométhane et couvrant la gamme de concentrations souhaitées (par exemple entre 0,4 mL et 40 ml complétés à 100 mL avec le solvant). Vérifier fréquemment la stabilité des solutions.

Étalonnage avec utilisation du protocole complet

Effectuer une première dilution dans l'eau pure (ou eau d'Evian) de la solution de dopage (par exemple 5 ml de solution de dopage complétés à 100 mL avec de l'eau). Utiliser ensuite cette solution fille de dopage en diluant à nouveau dans l'eau de façon à couvrir la gamme de concentrations souhaitées (par exemple 5 ml de la solution fille de dopage complétés à 500 mL avec de l'eau). Appliquer le mode opératoire complet décrit ci-dessous en même temps que les échantillons à analyser.

Mode opératoire

Extraction liquide-liquide

Extraire à l'aide d'une ampoule à décanter un volume d'échantillon connu (500 mL ou 1 L) avec deux fois 50 mL de dichlorométhane (agiter chaque fois pendant 10 minutes minimum). Acidifier la phase aqueuse avec 1 mL d'acide chlorhydrique et extraire à nouveau par 50 mL de dichlorométhane.

Concentration

Sécher la totalité des extraits organiques (recueillis ensemble) par 10 à 20 g de sulfate de sodium anhydre (laisser au contact pendant 30 minutes). Concentrer l'extrait séché (et les quelques millilitres de solvant de rinçage) par évaporation à 35 °C (maximum) jusqu'à quelques millilitres. Ajouter les solutions d'étalons internes et concentrer sous courant d'azote ou d'hélium jusqu'à 0,25 mL.

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne de faible polarité de type copolymère de cyanopropyl-phényle (6 %) -diméthylpolysiloxane (94 %), avec gradient de température d'environ 30 °C à environ 300 °C à 5 ou 8 °C par minute. L'ordre d'élution des composés sera proche de celui indiqué dans le tableau ci-dessus.

Remarques

– Les limites de quantification sont comprises entre 0,01 et 0,1 µg/L.

– Plusieurs composés sont co-élués mais la spectrométrie de masse permet de lever cette coélution.

– D'autres composés sont analysés comme notamment les anilines substituées et les halobenzènes.

– Plusieurs étalons internes peuvent être utilisés : Triphénylphosphate, Tripropylphosphate, Siméton, Hexabromobenzène…

– Il doit être procédé à des comparaisons avec les méthodes de dosage spécifiques.

– Un blanc doit être effectué avec l'eau servant à la préparation de la solution de dopage et des étalons pour procédure complète en utilisant la même verrerie de laboratoire et les mêmes appareillages.

10.24.9 Méthode multi-résidus par chromatographie liquide

■ Principe

Après extraction solide-liquide à pH neutre, l'éluat (acétone/méthanol) concentré est injecté en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS^2).

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Vérifier que le pH est compris entre 6 et 9, sinon l'ajuster. Conserver les flacons à 4 °C et à l'obscurité, y compris pendant le transport. Pratiquer l'extraction de préférence le plus vite possible. Ne pas conserver plus de 10 jours.

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;

– Flacons de concentration avec septum en PTFE ;

– Microseringues ;

– Dispositif automatique ou manuel d'enrichissement des échantillons (SPE) ;

– Dispositif de concentration des extraits sous courant d'azote ou d'hélium avec bain thermostaté ;

– HPLC couplée à la spectrométrie de masse (détecteur MS/MS avec interface électropsray pour enregistrement des transitions spécifiques).

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure ;

– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;

– Méthanol ;

– Acétonitrile ;

– Acétone ;

– Acide formique ;

– Solution d'acide chlorhydrique (1 M) ;
– Solution d'hydroxyde de potassium (1 M) ;
– Solution de thiosulfate de sodium à 0,1 N ;
– Cartouches contenant 6 mL ou 500 mg d'adsorbant (de type « Supelco ») ;
– Solutions mères étalons à 100 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié		10 mg
Acétonitrile	*q.s.p.*	50 mL

– Solutions filles étalons (à conserver en congélateur) :

Solution mère		0,5 mL
Acétonitrile	*q.s.p.*	50 mL

– Solutions de dopage (à conserver en congélateur) :

Solution fille étalon		250 µL
Eau ultra-pure (ou eau d'Evian)	*q.s.p.*	10 mL

Pesticides dosables par méthode multi-résidus (CLHP)

Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Transitions[b]	Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Transitions[b]
Hydroxysimazine	184>114; 184>184	Carbofuran (et/ou benfuracarb)	222>123 ; 222>165
Carbendazime	192>160; 192>132	Thiodicarb	355>88 ; 355>108
Hydroxyatrazine	198>156; 198>114	Sulcotrione	327>291 ; 327>212
Methomyl	163>88 ; 163>106	Méthabenthiazuron	222>150 ; 222>165
Desethylsimazine	174>132 ; 174>174	1-(4-isopropylphénul) 3 méthyl urée (D2)	193>94 ; 193>151
Simeton	198>128	Atrazine Atrazine D5	216>174 ; 216>104 221>179
Hydroxy terbutylazine	212>156 ; 212>212	Triasulfuron	402>167 ; 400>139
Metamitrone	203>175 ; 203>104	Chlortoluron	213>72 ; 213>213
3 hydroxy carbofuran	238>181 ; 238>220	Bentazone	239>132 ; 239>175
Pirimicarbe	239>72 ; 239>182	Rimsulfuron	432>182 ; 430>179
Desethylatrazine	188>146 ; 188>188	Carbaryl	202>145 ; 202>127
Imidaclopride	256>175 ; 254>254	1(3-4-dichlorophényl) 3-méthyl urée (D4)	219>127 ; 217>160
Desmesthryne	214>82 ; 214>214	Isoproturon	207>72 ; 207>165
Imazaméthabenz-méthyl	289>144 ; 289>86	Monolinuron	215>126 ; 215>148
Metoxuron	229>72 ; 229>229	Diuron	233>72 ; 231 ; 186
Carbétamide	237>192 ; 237>118	Terbuthryne	242>186 ; 242>91

Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Transitions[b]	Noms usuels (par ordre d'élution croissant)[a]	Transitions[b]
Simazine	202>124 ; 202>202	Métobromuron	259>170 ; 259>119
Nicosulfuron	411>182 ; 409>154	Metazachlor	278>210 ; 278>134
Monuron	199>72 ; 199>199	Flazasulfuron	408>182 ; 406>179
Oxadixyl	279>219 ; 279>102	Dimetomorphe	388>301 ; 388>165
1(3-chloro 4-methylphényl) urée (D5)	185>140 ; 185>185	Terbutylazine	230>174 ; 230>230
Imazaquin	312>312 ; 310>266	Mercaptodiméthur (=méthiocarbe)	226>121 ; 226>169
Metribuzine	215>187 ; 215>131	Diméthenamide	276>244 ; 276>276
Cyanazine	241>214 ; 241>241	Linuron	249>182 ; 247>160
Foramsulfuron	453>182 ; 451>268	Prosulfuron	420>141 ; 418>139
Desethylterbutylazine	202>146 ; 202>202	Prochloraze	376>308; 376 >266
Thifensulfuron methyl	386>139 ; 386>386	Isoxaben	333>165 ; 333>150
Mesotrione	338>291 ; 338>338	Tebutame	234>91 ; 234>142
1(4-isopropylphényl) urée (D1)	179>137 ; 179> 94	Métolachlor	284>252 ; 284>176
1(3-4-dichlorophényl) urée (D3)	203>160 ; 203>42	Néburon	275>88 ; 273>186
Metsulfuron methyl	382>167 ; 380>139		

[a]Ordre d'élution sur colonne C18 dans les conditions d'élution précisées ci-dessous. Les composés de la première colonne du tableau puis de la deuxième colonne sont élués dans l'ordre annoncé.
[b]La première transition citée est celle utilisée pour la quantification, la seconde est pour la confirmation

Établissement de la courbe d'étalonnage

Étalonnage par injection directe

Préparer, juste avant utilisation, au moins 5 dilutions de la solution étalon fille un mélange eau/acétonitrile (70/30) et couvrant la gamme de concentrations souhaitée (par exemple entre 0,5 mL et 20 mL complétés à 100 mL avec le solvant binaire). Vérifier fréquemment la stabilité des solutions.

Étalonnage avec utilisation du protocole complet

Effectuer une dilution dans l'eau de la solution de dopage pour couvrir la gamme de concentrations souhaitées (par exemple 0,1 à 4 mL de solution de dopage complétés à 250 mL avec de l'eau). Appliquer le mode opératoire complet décrit ci-dessous en même temps que les échantillons à analyser.

Mode opératoire

EXTRACTION LIQUIDE-SOLIDE

Utiliser de l'ordre de 2 grammes de matériau adsorbant par litre de solution. Après avoir lavé le matériau avec un mélange acétone/méthanol 80/20 v/v (2 fois 5 ml pour 500 mg), laver à nouveau avec de l'eau ultra-pure (5 ml pour 500 mg) à un débit de l'ordre de 10 mL/min.

Prélever 250 mL d'échantillon à analyser et ajouter 0,5 mL de solution de thiosulfate de sodium. Ajouter l'étalon interne.

Faire passer les 250 mL sur une cartouche contenant 500 mg de support à un débit de 10 mL/min. Rincer avec 10 ml d'eau ultra-pure et sécher l'adsorbant sous courant d'azote pendant 15 minutes à 450 mL/min et à température ambiante.

ÉLUTION ET CONCENTRATION

Euler par un mélange acétone/méthanol 80/20 v/v (environ 4 à 5 ml). Évaporer sous courant d'azote ou d'hélium (à 30 °C) jusqu'à siccité. Reprendre par un mélange eau ultra-pure/acétonitrile 80/20 v/v (500 μL).

DOSAGE CHROMATOGRAPHIQUE

Utiliser une colonne de type C18. Les solvants d'élution sont :

– À : eau ultra-pure + acide formique à 0,01 % + acétonitrile 0,05 % ;

– B : acétonitrile + acide formique 0,01 %.

Les conditions d'élution sont les suivantes :

– 0 min à 2 min : 95 % A/5 % B ;

– à 13 min : 70 % A/30 % B ;

– à 25 min : 50 % A : 50 % B ;

– à 32 min 1 % A/99 % B ;

– à partir de 34 à 35 min : retour aux conditions initiales en une vingtaine de minutes.

L'élution des composés sera proche de celui indiqué dans le tableau ci-dessus.

Remarques

– Les limites de quantification sont comprises entre 0,02 et 0,1 μg/L.

– L'étalon interne souvent utilisé est l'atrazine D5.

– Il doit être procédé à des comparaisons avec les méthodes de dosage spécifiques.

– Un blanc doit être effectué avec l'eau servant à la préparation de la solution de dopage et des étalons pour procédure complète en utilisant la même verrerie de laboratoire et les mêmes appareillages.

Méthodes de référence

AFNOR NF EN ISO 6468 (février 1997). Qualité de l'eau – Dosage de certains insecticides organochlorés, des polychlorobiphényles et des chlorobenzènes – Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide (indice de classement T 90-120).

AFNOR NF EN ISO 11369 (novembre 1997). Qualité de l'eau – Dosage de certains agents de traitement des plantes. Méthode par chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP) avec détection UV après extraction liquide-solide (indice de classement T 90-123).

AFNOR NF EN 12918 (octobre 1999). Qualité de l'eau – Dosage du parathion, méthyl-parathion et certains autres composés organophosphorés dans les eaux après extraction au dichlorométhane et analyse par chromatographie gazeuse (indice de classement T 90-128).

AFNOR NF EN ISO 10695 (juin 2000). Qualité de l'eau – Dosage de certains composés organiques azotés et phosphorés sélectionnés. Méthode par chromatographie gazeuse (indice de classement T 90-121).

AFNOR NF EN ISO 15913 (octobre 2003). Qualité de l'eau – Dosage de certains herbicides phénoxyalcanoïques, y compris bentazones et hydroxybenzonitriles, par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse après extraction en phase solide et dérivatisation (indice de classement T 90-180).

NF ISO 21458 (février 2009). Qualité de l'eau – Dosage du glyphosate et de l'AMPA – Méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et détection fluorimétrique (indice de classement T90-188).

NF T 90-187-1 (septembre 2007). Qualité de l'eau – Dosage du glyphosate et de l'AMPA – Méthode par chromatographie liquide avec détection fluorimétrique utilisant la dérivation post-colonne.

10.25 Phénols

Du point de vue analytique, le terme de phénol englobe ce produit et ses homologues immédiatement supérieurs. Lorsque le dosage est globalisé (indice phénol), le phénol étant employé comme étalon, le résultat obtenu correspond à la concentration minimum de composés phénoliques présents dans l'échantillon, car les groupements pouvant être fixés sur le noyau benzénique ont plutôt tendance à diminuer la sensibilité de la réaction colorée.

Étant donné la diversité des composés phénoliques, il est souvent très utile de pouvoir procéder à une chromatographie pour identifier le composé phénolique en cause. Les phénols susceptibles de se rencontrer dans les eaux sont généralement d'origine industrielle (chlorophénols, nitrophénols, alkylphénols…). Cependant, il faut se souvenir que la quantité de dérivés hydroxylés rejetés journellement par l'organisme humain (transformation du tryptophane en indoxyle et processus de détoxication) est évaluée de 200 à 300 mg. Ces phénols évoluent assez rapidement sous l'action bactérienne et en l'absence de toute pollution industrielle, ils permettent de déceler une pollution fécale récente.

Les solutions très diluées de phénol se décomposant très rapidement, les eaux doivent être analysées dans les 12 heures qui suivent le prélèvement ou être stabilisées par l'addition de 1 g de sulfate de cuivre par litre et acidifiées à pH < 4 avec de l'acide phosphorique. Dans ce dernier cas, les échantillons peuvent être conservés à 4 °C pendant une semaine.

La méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire à l'amino-4-antipyrine permet le dosage du phénol et des composés substitués en ortho et en méta,

mais non celui des composés substitués en para avec des groupes alkyl, aryl, benzoyle, nitro, nitroso, aldéhyde (exemple : paracrésols). Par contre les composés substitués en para avec des groupes carboxyl, méthoxyl, halogène pourront être dosés dans des conditions particulières de *p*H.

La méthode avec distillation préalable et extraction, demande plus de temps mais elle est sensible et particulièrement bien adaptée pour des teneurs inférieures à 1 mg/L.

Les méthodes par chromatographie liquide haute performance ou par chromatographie gazeuse permettent d'identifier et de doser rapidement plusieurs familles de composés phénoliques diversement substitués. Elles s'appliquent à tous les types d'eaux : potables, de surface, d'égouts, et permettent le dosage de certains polysubstitués avec une grande sensibilité et une bonne reproductibilité.

10.25.1 Méthode à l'amino-4-antipyrine (indice phénol)

■ Principe

Les phénols donnent avec l'amino-4-antipyrine en milieu alcalin et en présence de ferricyanure de potassium, une coloration extractible par le chloroforme, susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ Prélèvement

Effectuer le prélèvement en flacon de verre contenant la solution de sulfate de cuivre à 100 g/L à raison de 10 mL/L d'échantillon, puis ajuster à *p*H < 4 avec une solution d'acide phosphorique au 1/10 en présence de méthyl orange. Conserver le prélèvement à l'obscurité et au réfrigérateur à 4 °C.

□ Matériel spécial

– Appareil à distiller en verre de 1 L comprenant :
  - un ballon à deux tubulures
  - un entonnoir à robinet
  - un réfrigérant.
– Laine de verre dégraissée à l'hexane.
– Ampoules à décanter.

□ Réactifs

– Eau déionisée ou ultra-pure exempte de phénol et de chlore
– Solution de sulfate de cuivre à 100 g/L.
– Solution d'acide phosphorique au 1/10.
– Solution tampon *p*H 9,5 :

chlorure d'ammonium		34 g
tartrate double de sodium et de potassium		200 g
hydroxyde d'ammonium ($d = 0{,}92$)		285 mL
eau ultra-pure ou déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'amino-4-antipyrine :

amino-4-antipyrine		2 g
eau ultra-pure ou déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Préparer cette solution chaque jour.

– Solution de ferricyanure de potassium

ferricyanure de potassium		8 g
eau ultra-pure ou déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Préparer cette solution chaque jour.

– Chloroforme.
– Solution mère étalon de phénol à 1 g/L.

phénol		1 g
eau ultra-pure ou déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver cette solution 1 mois à l'obscurité et à 4 °C.
– Solution fille étalon de phénol à 10 mg/L.
Diluer extemporanément la solution mère au 1/100.
– Solution fille étalon de phénol à 1 mg/L.
Diluer extemporanément la solution précédente au 1/10.

■ Distillation préalable

Introduire dans le ballon de l'appareil à distiller 500 mL d'échantillon traité au préalable pour conservation, vérifier que le *p*H = 4. Adapter le réfrigérant et distiller à une cadence de 8 à 10 mL par minute en recueillant le distillat dans une fiole jaugée de 500 mL. Arrêter la distillation lorsque le volume recueilli est de 450 mL. Après refroidissement, ajouter 50 mL d'eau puis poursuivre la distillation jusqu'à obtention de 500 mL.

Technique adaptée aux teneurs supérieures à 0,5 mg/L

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de béchers de 150 mL numérotés, introduire successivement :

Numéro des béchers	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution étalon à 10 mg/L (mL)	0	2,5	5	10	15	20	25
Eau ultra-pure ou déionisée (mL)	50	47,5	45	40	35	30	25
Solution tampon (mL)	2	2	2	2	2	2	2
Solution d'amino-4-antipyrine (mL)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Solution de ferricyanure de potassium (mL)	1	1	1	1	1	1	1
Correspondance en mg/L de phénol	0	0,5	1	2	3	4	5

Attendre 5 min à la température ambiante. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 510 nm. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Prélever 50 mL de distillat, les introduire dans un bécher et poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 510 nm en tenant compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en phénol exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Technique adaptée aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/L

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décantation de 500 mL, introduire successivement :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V	VI
Solution étalon de phénol à 1 mg/L (mL)	0	5	10	20	30	40	50
Eau ultra-pure ou déionisée (mL)	200	195	190	180	170	160	150
Solution tampon (mL)	2	2	2	2	2	2	2
Correspondance en mg/L de phénol	0	0,025	0,050	0,10	0,15	0,20	0,25

Ajouter en agitant après chaque addition :

solution d'amino-4-antipyrine à 2 %	3 mL
solution de ferricyanure de potassium à 2 %	10 mL

Attendre 3 min. Ajouter 25 mL de chloroforme. Agiter énergiquement 1 min. Laisser décanter le chloroforme et agiter une deuxième fois. Laisser décanter et recueillir le chloroforme en le filtrant sur un petit tampon de laine de verre. Effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 460 nm dans un délai inférieur à 1 heure après l'extraction. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

À 200 mL de distillat, ajouter 2 mL de solution tampon. Poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 460 nm en tenant compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 200 mL, la courbe donne directement la teneur en phénol, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 25 µg/L.

– Les phénols réagissent différemment avec l'amino-4-antipyrine, en donnant une coloration dépendant également de leur composition chimique. C'est donc plus un « indice-phénol » qu'une teneur en tel ou tel phénol que permet d'obtenir cette méthode.

– La distillation supprime l'interférence due à la coloration ou à la turbidité de l'eau, à la présence de sels, de composés organiques (acides humiques, lignines, etc.) ou d'amines aromatiques.

– Le *p*H élevé permet d'éviter la coloration parasite développée à *p* H 8.

– En présence de sulfites, faire passer dans l'échantillon préparé pour la distillation, un courant d'azote en réglant le débit à quelques bulles par secondes.

– Le sulfate de cuivre en milieu acide, ajouté pour la conservation de l'échantillon, élimine également l'interférence due aux sulfures.

– Une adaptation de la méthode permet de doser les concentrations inférieures à 0,025 mg/L. Pour ces faibles teneurs, effectuer l'extraction sur 500 mL de distillat et la lecture spectrométrique en cuves de 5 cm.

– Pour des teneurs inférieures à 10 µg/L, la reproductibilité des résultats entre laboratoires est délicate.

– Certains phénols, comme les naphtols, échappant à la distillation sous pression atmosphérique, peuvent être entraînés à l'aide d'un générateur de vapeur d'eau sous pression.

– Le chloroforme est interdit d'utilisation en tant que solvant dans les laboratoires d'analyse.

– Cette méthode est applicable par analyse en flux.

10.25.2 Méthode par spectrométrie infra-rouge

Pour plus d'informations, reporter vous aux suppléments en ligne de l'ouvrage (www.dunod.com).

10.25.3 Chlorophénols par chromatographie gazeuse

Cette méthode permet de doser tous les chlorophénols (des monochlorés aux pentachlorés) après transformation en acétates correspondants, dans une gamme de concentration comprise entre quelques dixièmes de microgrammes par litre et quelques microgrammes par litre.

■ Principe

Après dérivation avec de l'anhydride acétique puis extraction par l'hexane, l'analyse est réalisée par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons ou à la spectrométrie de masse.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 500 mL en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Les conserver à 4 °C à l'obscurité. Pratiquer l'extraction si possible immédiatement (dans les 24 h) après avoir ajuster le pH entre 7 et 10.

Chlorophénols dosables par CG

Noms	Formule moléculaire brute (N° CAS)	Fragments (m/z) des acétates (ion moléculaire)
2-chlorophénol	C_6H_5OCl (95-57-8)	128, 130 (170)
3-chlorophénol	C_6H_5OCl (108-43-0)	128, 130 (170)
4-chlorophénol	C_6H_5OCl (106-48-9)	128, 130 (170)
2,3-dichlorophénol	$C_6H_4OCl_2$ (576-24-9)	162, 164, 166 (206)

Noms	Formule moléculaire brute (N° CAS)	Fragments (m/z) des acétates (ion moléculaire)
2,4-dichlorophénol	$C_6H_4OCl_2$ (120-83-2)	162, 164, 166 (206)
2,5-dichlorophénol	$C_6H_4OCl_2$ (583-78-8)	162, 164, 166 (206)
2,6-dichlorophénol	$C_6H_4OCl_2$ (87-65-0)	162, 164, 166 (206)
3,4-dichlorophénol	$C_6H_4OCl_2$ (95-77-2)	162, 164, 166 (206)
3,5-dichlorophénol	$C_6H_4OCl_2$ (591-35-5)	162, 164, 166 (206)
2,3,4-trichlorophénol	$C_6H_3OCl_3$ (15950-66-0)	162, 164, 166 (206)
2,3,5-trichlorophénol	$C_6H_3OCl_3$ (933-78-8)	196, 198, 200, 202 (238)
2,3,6-trichlorophénol	$C_6H_3OCl_3$ (88-06-2)	196, 198, 200, 202 (238)
2,4,5-trichlorophénol	$C_6H_3OCl_3$ (95-95-4)	196, 198, 200, 202 (238)
3,4,5-trichlorophénol	$C_6H_3OCl_3$ (609-19-8)	196, 198, 200, 202 (238)
2,3,4,5-tétrachlorophénol	$C_6H_2OCl_4$ (4901-51-3)	230, 232, 234, 236 (272)
2,3,4,6-tétrachlorophénol	$C_6H_2OCl_4$ (58-90-2)	230, 232, 234, 236 (272)
2,3,5,6-tétrachlorophénol	$C_6H_2OCl_4$ (935-95-5)	230, 232, 234, 236 (272)
Pentachlorophénol	C_6HOCl_5 (87-86-5)	264, 266, 268, 270 (306)

☐ **Matériel spécial**

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;

– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;

– Ampoules à décanter en verre de 100 mL avec robinet en PTFE ;

– Microseringues ;

– Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur ECD ou couplée à la spectrométrie de masse.

☐ **Réactifs**

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;

– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;

– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;

– n-Hexane ;

– Ethanol ;

– Carbonate de potassium 1 M ;

– Anhydride acétique ;

– Sulfate de sodium anhydre obtenu soit par chauffage à 400-500 °C pendant 4 heures, soit par lavage à l'éther de pétrole, puis séchage en deux étapes (sous hotte ventilée puis à 110 °C) ;

– Solutions mères étalon à 100 mg/L (stable 6 mois à 1 an) :

Étalon certifié		10 mg
Éthanol	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions étalons intermédiaires à 1 mg/L (penta et tétrachlorophénols) 3 mg/L (tri et dichlorophénols) et à 30 mg/L (monochlorophénols) ;

– Solutions étalons de travail à préparer juste avant utilisation par dilutions dans l'eau ultra-pure. À titre d'exemple, les solutions étalons intermédiaires peuvent être diluées dans un facteur compris entre 10 et 1 000.

Étalonnage

Préparer juste avant utilisation, des dilutions dans l'eau ultra-pure couvrant la gamme de concentrations souhaitées. Par rapport aux solutions étalons intermédiaires, prévoir des dilutions comprises entre 10 et 1 000.

Mode opératoire (échantillons et étalons)

Dérivation (acétylation) et extraction liquide-liquide

Introduire dans une ampoule à décanter (débouchée) de 100 mL minimum :

– 50 mL d'eau ultra-pure,

– 1 ou 2 mL de la solution étalon de travail,

– l'étalon interne si nécessaire (100 à 200 ng sous forme d'une solution dans l'éthanol),

– 5 ml de la solution de carbonate de potassium,

– 1 mL d'anhydride carbonique (attention au dégagement de CO_2),

– après 10 à 15 minutes, 5 ml de n-hexane.

Après bouchage de l'ampoule, agitation et séparation des deux phases, récupérer la phase organique et la sécher sur du sulfate de sodium anhydre et la concentrer.

Dosage chromatographique

La séparation peut être effectuée, soit sur une colonne capillaire apolaire de type diméthylpolysiloxane ou copolymère diphényle-diméthylpolysiloxane, soit sur une colonne moyennement polaire de type copolymère cyanopropylphényle-diméthysiloxane. La détection peut être assurée par capture d'électrons ou par spectrométrie de masse.

Remarques

– La limite de détection est de quelques centièmes de µg/L à quelques dixièmes selon les phénols.

– Des bromophénols peuvent être utilisés comme étalons internes (ex. : 2,4-dibromophénol, cf. tableau nitrophénols).

– S'assurer de l'absence d'oxydant dans l'échantillon à analyser et neutraliser si nécessaire avec de sulfite de sodium ou du thiosulfate de sodium.

– S'assurer que le pH de l'échantillon avant dérivation est compris entre 7 et 10.

– Pour les échantillons souillés, il existe une procédure de purification qui consiste à extraire les souillures de l'échantillon (ajusté à pH 4) par du toluène.

– Le millilitre d'anhydride acétique peut être remplacé par 20 µL de chlorure de pentafluorobenzolyle.

10.25.4 Chlorophénols par chromatographie liquide haute performance

Pour plus d'informations, reporter vous aux suppléments en ligne de l'ouvrage (www.dunod.com).

10.25.5 Nitrophénols par chromatographie gazeuse

Pour ces composés, c'est la dérivation au diazométhane (transformation de la fonction phénol en fonction anisole) qui est conseillée. L'expérimentateur devra prendre toutes précautions pour la manipulation du diazométhane (substance extrêmement toxique et explosive) et s'informer des consignes de sécurité.

■ Principe

Après extraction liquide-solide et dérivation par le diazométhane, les nitrophénols méthylés sont dosés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, avec un eimite détection de l'ordre de 0,05 à 0,3 µg/L selon les phénols.

Prélèvements

Prélever l'échantillon à analyser dans des flacons de 1 litre en verre brun (nettoyés avec précaution), avec bouchon en verre rodé ou à vis en PTFE. Ces flacons doivent être remplis totalement. Le pH doit être inférieur à 2. Conserver les flacons à l'obscurité, y compris pendant le transport. Pratiquer l'extraction si possible immédiatement (dans les 24 h).

☐ Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire dans un état de propreté parfaite ;
– Flacons de prélèvement en verre (cf. ci-dessus) ;
– Appareillage pour le diazométhane (cf. § A-10.24.5) ;
– Flacons de concentration, avec septum en PTFE ;
– Microseringues ;
– Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

☐ Réactifs

– La pureté de tous les réactifs est impérative, y compris celle des solvants organiques (qualité « pesticides » existant dans le commerce) ;
– Eau ultra-pure (ou déionisée) ;
– Hélium ou azote de haute pureté (pour concentration) ;
– Méthanol ;
– Acétone ;
– Acétate d'éthyle ;
– Réactifs pour préparer la solution de diazométhane (cf. § A-10.23.5) ;
– Cartouches remplies d'adsorbant de type styrène-divilybenzène (ex. HLB) ;
– Solutions mères étalon à 100 à 500 mg/L (à conserver en congélateur) :

Étalon certifié méthylé ou non méthylé		10 ou 50 mg
Acétone ou acétate d'éthyle	*q.s.p.*	100 mL

– Solutions étalons intermédiaires diluées 100 fois dans le même solvant que les solutions mères.

Nitrophénols dosables par CG

Noms	Formule moléculaire brute (N° CAS)	Fragments (m/z) des phénols méthylés (anisoles)
2-nitrophénol	$C_6H_5NO_3$ (88-75-5)	153, 106, 92
3-nitrophénol	$C_6H_5NO_3$ (554-84-7)	153, 92, 107
4-nitrophénol	$C_6H_5NO_3$ (100-02-7)	153, 92, 123
2,4-dinitrophénol	$C_6H_4N_2O_5$ (51-28-5)	198, 168, 151
2,5-dinitrophénol	$C_6H_4N_2O_5$ (329-71-5)	198, 168
2,6-dinitrophénol	$C_6H_4N_2O_5$ (573-56-8)	198, 151, 168
2,4-dichloro-6-nitrophénol	$C_6H_3Cl_2NO_3$ (609-89-2)	221, 223, 191
2,6-dichloro-4-nitrophénol	$C_6H_3Cl_2NO_3$ (618-80-4)	221, 223, 191
2,6-diméthyl-4-nitrophénol	$C_8H_9NO_3$ (2423-71-4)	181, 151
2,4-dinitro-6-méthylphénol	$C_7H_6N_2O_5$ (534-52-1)	212, 182, 165
4-méthyl-2-nitrophénol	$C_7H_7NO_3$ (119-33-5)	167, 120, 137
3-méthyl-4-nitrophénol	$C_7H_7NO_3$ (2581-34-2)	167, 150
3-méthyl-2-nitrophénol	$C_7H_7NO_3$ (4920-77-8)	167, 150
5-méthyl-2-nitrophénol	$C_7H_7NO_3$ (700-38-9)	167, 150
Étalons internes possibles		
2,4-dibromophénol	$C_6H_4OBr_2$ (615-58-7)	266, 264, 268
2,4,6-tribromophénol	$C_6H_3OBr_3$ (118-79-6)	344, 346, 329

Solution de diazométhane

La solution de diazométhane peut être préparée dans un appareil de distillation placé dans une sorbonne avec toutes les précautions adéquates (cf. § A-10.24.5).

Établissement de la courbe d'étalonnage

ÉTALONNAGE PAR INJECTION DIRECTE

Préparer, juste avant utilisation, des dilutions des solutions étalons intermédiaires des phénols méthylés (anisoles) dans le même solvant que celui utilisé pour ces solutions étalons (q.s.p. 100 mL) et couvrant la gamme de concentrations souhaitée. Vérifier fréquemment la stabilité des solutions.

ÉTALONNAGE AVEC UTILISATION DU PROTOCOLE COMPLET

Préparer des dilutions, dans l'eau pure, des solutions étalons intermédiaires des phénols couvrant la gamme de concentrations souhaitées (minimum à 0,5 μg/L). Appliquer le mode opératoire complet décrit ci-dessous en même temps que les échantillons à analyser.

Mode opératoire

EXTRACTION LIQUIDE-SOLIDE

Utiliser de l'ordre de 0,2 gramme (3 mL) de matériau adsorbant par litre de solution. Après avoir lavé le matériau avec de l'acétate d'éthyle (5 ml), puis

avec du méthanol (5 ml), laver à nouveau de l'eau ultra-pure acidifié à pH 2 (10 à 20 mL). Ne pas sécher avant de démarrer la procédure d'enrichissement en filtrant, à un débit de l'ordre de 2 à 5 ml/min, un volume précis de l'échantillon acidifié à pH 2 (prévoir un volume de 500 mL minimum). Sécher la cartouche avec l'hélium (ou l'azote) et éluer avec 2 à 3 mL d'acétate d'éthyle.

Concentration et dérivation au diazométhane

Concentrer l'extrait séché par évaporation (presque jusqu'à quelques dixièmes de mL). Ajouter environ 0,5 mL de solution de diazométhane et laisser agir environ 1 heure à l'obscurité (la solution doit rester jaune). Évaporer (presque jusqu'à sec) et dissoudre le résidu dans un volume précis d'acétate d'éthyle (200 μL).

Dosage chromatographique

Utiliser une colonne non polaire de type méthylsilicone (DB-1, HP-1, DB-5, HP-5…) avec gradient de température de 60 °C à environ 280 °C à 8 °C par minute.

Remarque

Les matériaux adsorbants du commerce peuvent être de qualité variables, notamment d'un lot à l'autre.

10.25.6 Nonylphénols et alkylphénols

Les alkylphénols (et alkylphénols éthoxylés) sont considérés comme des perturbateurs endocriniens, notamment les nonylphénols. Ces derniers entrent dans la composition de divers produits comme les cosmétiques, les peintures, les produits de nettoyage, les plastiques, les résines, etc. Les nonylphénols et les octylphénols font partie de la liste des 33 substances prioritaires.

La communauté scientifique s'intéresse particulièrement à ces composés depuis quelques années et de nombreuses méthodes sont encore publiées fin des années 2000. Elles consistent soit en une extraction liquide-liquide suivie d'un dosage par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, soit en une extraction liquide-solide (SPE) suivie d'un dosage par chromatographie gazeuse ou par chromatographie liquide couplées à la spectrométrie de masse. Un résumé de ces méthodes est présenté ici. Les principaux alkylphénols dosables sont présentés dans le tableau ci-dessous. Les limites détection dépendent des méthodes utilisées mais également des milieux (eaux naturelles et potables ou eaux usées).

Alkylphénols dosables par CG

Noms	Formule moléculaire brute (N° CAS)	Ordre d'élution	Fragments (m/z) ou transitions MRM (***) pour identification et quantification
4- (2,4-diméthylheptan-4-yl) phénol ou NP1	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	1 (*)	121, 163
4- (2,4-diméthylheptan-2-yl) phénol ou NP2	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	2 (*)	135, 220
4- (3,6-diméthylheptan-3-yl) phénol ou NP3	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	3 (*)	135, 107, 121
4- (3,5-diméthylheptan-3-yl) phénol ou NP4 ou NP6	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	4 (*)	189, 191
4- (2,5-diméthylheptan-2-yl) phénol ou NP5	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	5 (*)	135, 163
4- (3-éthyl-2-méthylhexan-2-yl) phénol ou NP7	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	6 (*)	135, 220
Isomère non identifié ou NP8	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	7 (*)	163, 121
4- (3,4-diméthylheptan-3-yl) phénol ou NP9	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	8 (*)	149, 107
4- (3,4-diméthylheptan-4-yl) phénol ou NP10	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	9 (*)	163, 121
4- (2,3-diméthylheptan-2-yl) phénol ou NP11	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	10 (*)	135, 220
4- (3-méthyloctan-3-yl) phénol ou NP12	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	11 (*)	191, 163
Isomère non identifié Ou NP13	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	12 (*)	135, 107
4-nonylphénol (mélanges d'isomères)	$C_{15}H_{24}O$ (2514-52-3)	1 (**)	135, 107 219,1 > 106 (***)
n 4-nonylphénol	$C_{15}H_{24}O$ (84852-15-3)	1(**)	219,1 > 106 (***)
4- (1,1,1,3-tétraméthylbutyl) phénol	$C_{14}H_{22}O$ (140-66-9)	2(**)	135, 107
Nonyl-phénol carboxylate (NPEC)	–		277,1 > 219,1 et 133 (***)
Octyl-phénol (OP)	$C_{14}H_{22}O$ (27193-28-8)		205,1 > 133 (***)
Octyl-phénol carboxylate (OPEC)	$C_6H_2OCl_4$		263,1 > 205,1 et 106 (***)

(*) Ordre d'élution en chromatographie gazeuse après extraction SPE.
(**) Ordred'élution en chromatographie gazeuse après extraction liquide.
(***) Transition pour LC/MS2.

■ Méthodes par extraction liquide-liquide

L'échantillon est généralement acidifié avant une extraction au toluène ou au dichlorométhane. Il est ensuite généralement purifié, notamment dans le cas d'une extraction au toluène où il est purifié en présence d'hexane. Après concentration, l'extrait est chromatographié sur colonne non polaire de type copolymère diphényle-diméthylpollysiloxane (exemple : DB5, CPSil-8CB/MS) sous courant d'hélium et sous programmation de température (100 °C à 200 °C à 10 °C/min). La détection par spéctrométrie de masse (mode SIM) conduit aux fragments principaux indiqués dans le tableau ci-dessous.

La limite de détection pour le mélange d'isomères du nonylphénol est de l'ordre de 5 à 10 ng/L en eaux propres mais peut être 5 à 10 fois plus élevées en eaux usées.

■ Méthodes par extraction liquide-solide (SPE)

Les cartouches utilisées sont de type HLB (OASIS par exemple). Elles sont :

– soit lavées par de l'acétone puis par l'eau ultra-pure acidifiée pour une analyse finale par chromatographie gazeuse,

– soit lavées par de l'acétonitrile puis par l'eau ultra-pure acidifiée pour une analyse finale par chromatographie liquide.

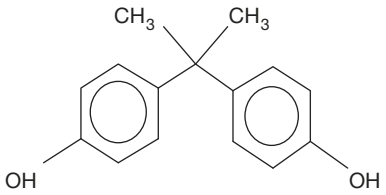
L'enrichissement est ensuite effectué à pH 5 (200 mL minimum). Après séchage de la cartouche, une élution est pratiquée par 2 fois 3 mL d'acétone (analyse par CG) ou d'acétonitrile (analyse par HPLC).

L'analyse par chromatographie gazeuse de l'extrait séché et concentré est réalisée dans les mêmes conditions que pour la méthode par extraction liquide-liquide. Une colonne de type C-18 (thermostatée à 30 °C) est utilisée pour l'analyse par chromatographie liquide sous un programme d'élution bien défini gradient (par exemple : 40/60 méthanol/eau à 80/20 méthanol/eau pendant 1 minute, suivi d'une élution isochratique de 2minutes, puis d'un nouveau gradient linéaire de 80/20 à 100/0 en 5 minutes).

Les limites de détection en eau propre sont de l'ordre de 0,1 à 0,2 ng/L pour les nonylphénols et 5 à 10 fois plus élevées pour les octylphénols.

10.25.7 Bisphénol A

Le bisphénol A (n° CAS 80-05-7) est employé comme stabilisant ou antioxydant dans plusieurs types de plastiques dont le chlorure de polyvinyle, matériau constitutif des réseaux de distribution d'eaux potables. Le bisphénol A se retrouve également dans de nombreux produits finis tels que les emballages alimentaires, les disques compacts, les peintures, les remplissages dentaires, etc. Il est également considéré comme un perturbateur endocrinien.



Il peut être dosé par la même méthode que les nonylphénols par extraction SPE et analyse par LC/MS^2 (transition 227,1 > 212 et 133), la limite détection est dans ce cas de 0,05 à 10 ng/L selon la qualité de l'eau étudiée. Cette méthode a été utilisée pour l'eau de mer avec une limite de détection de 0,04 ng/L.

Des méthodes multi-résidus ou multi-perturbateurs endocriniens ont été développées ces récentes années. Elles utilisent l'extraction solide-liquide (cartouches de type C-18 ou HLB) et une détection par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS et GC/MS^2). Sans dérivation préalable la limite de détection est de l'ordre de 5 ng/L sur les fragments (m/z 228, 213, 219). Avec dérivation par le BSTFA (en présence de pyridine), la limite de détection est plus basse (de l'ordre de 0,2 à 0,5 ng/L). La méthode multi-pertubateurs, avec dérivation au BSTFA présente l'ordre d'élution OP, NP, BPA, E1, E2, EE2 sur colonne non polaire (par exemple CPSil 8CB).

Méthodes de référence

AFNOR T90-109 (avril 1976). Essais des eaux – Détermination de l'indice phénol.

AFNOR NF EN ISO 14402 (décembre 1999). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice phénol par analyse en flux (FIA et CFA) (indice de classement T 90-127).

AFNOR NF EN 12673 (mars 1999). Qualité de l'eau – Dosage par chromatographie gazeuse de certains chlorophénols dans les eaux (indice de classement T 90-126).

AFNOR NF EN ISO 17495 (octobre 2003). Qualité de l'eau – Dosage des nitrophénols sélectionnés – Méthode par extraction en phase solide avec détection par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (indice de classement T 90-181).

NF EN ISO 18857-1 (novembre 2006). Qualité de l'eau – Dosage d'alkylphénols sélectionnés – Partie 1 : Méthode pour échantillons non filtrés par extraction en phase liquide-liquide et chromatographie gazeuse avec détection sélective de masse (indice de classement T 90-184-1).

ISO/DIS 24293 (septembre 2007). Qualité de l'eau – Détermination des isomères individuels de nonylphénol – Méthode par extraction en phase solide (SPE) et chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.

10.26 Phtalates

Les phtalates sont des esters de l'acide phtalique qui sont utilisés depuis plus de 50 ans dans de nombreux produits de consommation comme plastifiants, c'est-à-dire additifs assouplissants de matières plastiques et autres matériaux (produits pour automobile, revêtements, isolants, tuyaux, jouets, emballage, etc.) et agents fixateurs de cosmétiques. Bien que d'utilisation réduite en Europe, ils sont souvent présents dans les milieux aqueux au contact avec de nombreux emballages. Ils sont biodégradables mais ils peuvent persister dans l'environnement, notamment dans les sédiments.

Les méthodes de dosage reposent principalement sur une extraction solide-liquide (SPE) sur cartouche de type C-18 (1 g pour 1 litre d'échantillon) éluée par de l'acétate d'éthyle. L'extrait est ensuite injecté en chromatographie gazeuse sur colonne capillaire non polaire avec gradient de température (70 °C à 280 °C). L'ordre d'élution suit généralement la masse molaire du phatalate. Bien qu'un détecteur à ionisation de flamme puisse être utilisé pour la détection et la quantification, le couplage à la spectrométrie de masse est nettement mieux adapté. Dans ce dernier cas, la limite de détection est environ de 10 à 20 ng/L pour chaque phtalate.

Principaux phtalates dosables par CG

Acronymes	Noms	Formule moléculaire brute (N° CAS)	Ordre d'élution	Fragments (m/z)
BBzP	Phtalate de butyle et de benzyle	$C_{19}H_{20}O_4$ (85-68-7)	5	149; 206
DBP	Phatalate de dibutyle	$C_{16}H_{22}O_4$ (84-74-2)	4	149; 223
DCHP	Phtalate de dicyclohexyle	$C_{20}H_{26}O_4$ (84-61-7)	6	149;167; 249
DDcP	Phatalate de didécyle	$C_{28}H_{46}O_4$ (84-77-5)	9	149; 167; 307
DEHP	Phatalate de di-2-éthylhexyle	$C_{24}H_{38}O_4$ (117-81-7)	7	149; 167
DEP	Phatalate de diéthyle	$C_{12}H_{14}O_4$ (84-66-2)	2	149; 177
DiBP	Phatalate de diisobutyle	$C_{16}H_{22}O_4$ (84-69-5)	–	149; 223
DMP	Phtalate de diméthyle	$C_{10}H_{10}O_4$ (131-11-3)	1	163; 177
DOP	Phtalate de di-*n*-octyle	$C_{24}H_{38}O_4$ (117-84-0)	8	149; 279
DPP	Phtalate de dipropyle	$C_{14}H_{18}O_4$ (131-16-8)	3	149; 191; 209
DUP	Phtalate de diundécyle	$C_{30}H_{50}O_4$ (3648-20-2)	10	149; 321

Méthode de référence

NF EN ISO 18856 (décembre 2005). Qualité de l'eau – Dosage de certains phtalates par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse (indice de classement T 90-186).

10.27 PCB (Polychlorobiphényles)

Ces composés peuvent être dosés, avec les pesticides organo-chlorés par chromatographie gazeuse après extraction liquide-liquide.

Se reporter au § A-10.24.1.

10.28 Résidus pharmaceutiques

Les résidus pharmaceutiques font partie polluants dits « émergeants » avec, notamment, les hormones. Ce sont des composés organiques issus de la consommation de médicaments et autres drogues par l'homme et par les animaux.

C'est une étude de l'U.S. Geological Survey, publiée en 2002, qui a déclenché une foule de travaux sur ces résidus pharmaceutiques, tant au niveau de leur dosage dans les eaux usées et naturelles qu'à celui de leur devenir dans l'environnement aquatique et dans les stations d'épuration des eaux usées. Cette première étude américaine a permis de détecter principalement des antibiotiques (17 différents dans la trentaine étudiée), à des concentrations de quelques dizaines à quelques centaines de nanogrammes par litre et d'autres résidus pharmaceutiques dont des analgésiques, antidépresseurs, régulateurs lipidiques, etc. D'autres études ont été réalisées ensuite, notamment en France (dans les rivières de l'Ile de France principalement).

Le tableau ci-dessous présente les principales classes de résidus pharmaceutiques actuellement détectés et quantifiés dans les eaux naturelles, ainsi que les méthodes de dosage généralement utilisées.

Principaux résidus pharmaceutiques retrouvés dans les eaux naturelles

Noms	Masse moléculaire (N° CAS)	Méthode de dosage connue (*)	Ordre de grandeur de la limite de détection (**)
Antibiotiques **Béta-lacrames (βL), Fluoroquinolones (FQ), Macrolides (MC), Sulfamides (SF) et Tétracyclines (TC)**			
Amoxicilline (βL)	365,4 (26787-78-0)	A	–
Ciprofloxacine (FQ)	331,4 (85721-33-1)	A	10 ng/L
Clarithromycine (MC)	748,0 (81103-11-9)	A	–
Erythromycine (MC)	733,9 (114-07-8)	A	25 ng/L
Minocycline (TC)	457,5 (10118-90-8)	A	–
Norfloxacine (FQ)	319,3 (70458-96-7)	A	–
Ofloxacine (FQ)	361,3 (82419-36-1)	A	10 ng/L
Oxytétracycline (TC)	460,4 (79-57-2)	A	10 ng/L
Roxithromycine (MC)	837,0 (80214-83-1)	A	10 ng/L
Spiramycine (MC)	–	A	–
Sulfachloropyridazine (SF)	284,7 (80-32-0)	A	10 ng/L
Sulfamérazine (SF)	286,2 (127-58-2)	A	10 ng/L
Sulfamethoxazole (SF)	253,2 (723-46-6)	A	10 ng/L
Tylosine (MC)	–	A	10 ng/L

Noms	Masse moléculaire (N° CAS)	Méthode de dosage connue (*)	Ordre de grandeur de la limite de détection (**)
Analgésiques et anti-inflammatoires			
Acide salicylique	138,1 (69-72-7)	A	50 ng/L
Diclofenac	296,1 (15307-86-5)	A, B	10 ng/L (A)
Ibuprofen	206,3 (15687-27-1)	A, B	–
Ketoprofen	254,2 (84-77-5)	A	25 ng/L
Paracétamol	151,2 (103-90-2)	A, B	10 ng/L (A)
Phénazone	188,2 (60-80-0)	A	25 ng/L
Anti-épileptiques			
Carbamazépine	236,3 (298-46-4)	A, B	10 ng/L (A)
Régulateurs lipidiques			
Acide clofibrique	214,6 (882-09-7)	B	–
Bezafibrate	361,8 (41859-67-0)	A	10 ng/L
Fenofibrate	360,0 (49562-28-9)	A	25 ng/L
Béta-bloquants			
Aténolol	266,3 (29122-68-7)	B	–
Métoprolol	267,3 (37350-58-6)	A	25 ng/L
Propanolol	259,4 (525-66-6)	A, B	10 ng/L (A)
Anti-cancéreux			
5-fluorouracile	130,1 (51-21-8)	A, B	15 ng/L (B)
Agents de contraste iodés			
Iohexol	821,1 (66108-95-0)	A, C	100 ng/L (C)
Iopromide	791,1 (73334-07-3)	A, C	100 ng/L (C)

(*) A : SPE/LC-MS2.
B : SPE-dérivation/GCMS.
C : IEC/IPC-MS.
(**) D'après LECARPENTIER et al., 2008 (cf. liste de références) pour la méthode A.

Les méthodes de dosage sont principalement de deux types :

– concentration par SPE, avec des phases « C-18 », « HLB » (pour antibiotiques), voire « Isolute ENV » (pour anti-cancéreux), suivie d'une analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS^2),

– concentration par SPE, dérivation (au BSTFA), suivie d'une analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Pour les agents de contraste iodés, des méthodes de dosage par chromatographie ionique couplée à la spectrométrie de masse (IEC/MS) ou à la

spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (IEC/ICP-MS) sont en cours de développement.

10.29 Tétrachloroéthylène et trihloroéthylène (limite de qualité « Eau potable »)

Ces solvants chlorés peuvent être dosés, avec d'autres hydrocarbures halogénés aliphatiques volatils, par chromatographie gazeuse de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide.

Se reporter au § A-10.17.1.

10.30 Trihalométhanes (THM) (limite de qualité « Eau potable »)

Ces solvants chlorés peuvent être dosés, avec d'autres hydrocarbures halogénés aliphatiques volatils, par chromatographie gazeuse de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide.

Se reporter au § A-10.17.1.

11 • SOUFRE ET COMPOSÉS SOUFRÉS

Le soufre colloïdal et les composés soufrés réducteurs se retrouvent particulièrement dans les eaux minérales naturelles. On peut rencontrer certains composés soufrés dans l'eau après certaines pollutions ou sous l'action de bactéries en milieu anaérobie.

11.1 Soufre colloïdal libre

■ Principe

Le soufre colloïdal est extrait de l'eau par du trichloréthylène. Après évaporation du solvant, le soufre est repris par de l'acétone pure. La solution acétonique donne, en présence d'un réactif alcalin, un cétosol de soufre allant du bleu ciel au vert foncé, susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ Réactifs

– Trichloréthylène pur.

– Acétone pure.

– Chlorure de sodium pur.

– Solution de chlorure de sodium à 5, 3, 1 et 0,5 %.

– Hydrosols de soufre.

Introduire dans un ballon de 2 litres, 1 900 mL d'eau déionisée, récemment bouillie et refroidie. Faire arriver un courant d'anhydride sulfureux pur et un courant d'hydrogène sulfuré pur par deux tubes de même diamètre, les débits gazeux étant aussi voisins que possible. Un trouble jaune apparaît aussitôt dans le liquide qui s'acidifie rapidement surtout par la formation d'acides polythioniques. Puis le soufre précipite en flocons qui s'amassent au fond du ballon. Séparer le dépôt du liquide surnageant dont le *p*H est voisin de 1. Additionner le liquide décanté de 5 % de chlorure de sodium pour précipiter le soufre colloïdal demeuré en suspension. Décanter. Réunir les deux gels sur un filtre Büchner et laver avec des solutions de chlorure de sodium de titre décroissant de 5 à 0,5 %, jusqu'à ce que le *p*H des eaux de lavage s'élève à 5,6. Ceci a pour but d'éliminer sensiblement tous les acides formés, en même temps que le soufre colloïdal. Le gel de soufre ainsi purifié peut être remis immédiatement en hydrosol dans de l'eau déionisée (*p*H 5,6).

– Réactif alcalin :

hydroxyde de potassium	1 g
alcool méthylique pur	100 mL

– Solution mère étalon de soufre à 100 mg/L.

Prendre la quantité de gel correspondant et remettre en hydrosol à l'aide d'eau déionisée. La teneur en soufre de cet hydrosol peut être déterminée avec exactitude par la méthode de Maillard : oxydation à l'eau de brome, élimination du brome en excès et gravimétrie habituelle des ions SO_4^{--} formés.

– Solution fille étalon de soufre à 0,1 mg/L.

Diluer au 1/1 000 la solution mère.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décanter de 250 mL numérotées, introduire successivement et en agitant après chaque addition :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Solution étalon de soufre à 0,1 mg/L (mL)	0	1	5	10	20	30	40	50	60	70	80
Eau déionisée (mL)	100	99	95	90	80	70	60	50	40	30	20
Correspondance en mg/L de soufre colloïdal	0	0,001	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08

Extraire le soufre colloïdal de chacun des échantillons, par 2 fois 10 mL de trichloréthylène. Filtrer le solvant sur papier filtre et évaporer au bain-marie. Reprendre le résidu par 10 mL d'acétone pure et ajouter 1 mL de réactif alcalin. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 520 nm dans les 5 secondes qui suivent l'addition du réactif alcalin. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Prélever 5 litres d'eau captée à l'émergence et, le plus rapidement possible, épuiser par 80 mL de trichloréthylène dans une ampoule à décanter. Le solvant est décanté puis filtré sur papier filtre. Évaporer à sec au bain-marie. Reprendre le résidu par 10 mL d'acétone. Ajouter 1 mL de réactif alcalin. Effectuer la lecture au spectromètre, dans les 5 secondes qui suivent l'addition du réactif alcalin à la longueur d'onde de 520 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 5 litres, le chiffre lu sur la courbe divisé par 5 donne la teneur en soufre colloïdal, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– Cette méthode n'est valable que pour de faibles concentrations en soufre colloïdal. En présence de grandes quantités de soufre, les cétosols ont une coloration jaune.

– Les unités d'absorbance obtenues sont fonction de la concentration mais ne suivent pas la loi de Beer-Lambert. La courbe est logarithmique.

11.2 Soufre et composés soufrés réducteurs

■ Principe

Cette méthode ultilise d'une part l'affinité de l'iode pour l'hydrogène sulfuré et d'autre part l'affinité de l'argent pour le soufre. Elle permet ainsi :

– de sélectionner les diverses catégories du soufre ;

– de doser, par addition directe d'une solution d'iode, toutes les formes réductrices du soufre, soit le soufre total ;

– de doser l'hydrogène sulfuré en l'entraînant par un courant d'hydrogène et en retranchant du précédent dosage, le résultat d'une nouvelle mesure iodométrique ;

– de déterminer les thiosulfates par un nouveau dosage après précipitation de l'hydrogène sulfuré et des sulfures par le plomb et de calculer la teneur en sulfures par simple différence avec le résultat précédent ;

– de déterminer le soufre total de l'hydrogène sulfuré, des sulfures et des polysulfures d'après la quantité d'ions argent absorbée pour la précipitation de ces composés. La différence avec le résultat de la mesure de ces composés par iodométrie, donne le soufre surajouté par les polysulfures.

□ Prélèvement de l'eau

Pour prélever l'eau destinée au dosage du soufre et de ses composés, il est nécessaire d'effectuer les prélèvements avec le moins de perturbations possible. Pour cela, utiliser un appareil spécial.

□ Appareil d'Urbain

Il est constitué d'un flacon comportant un rodage à deux tubulures dont l'une (*t*) descend au fond du ballon, et d'un bouchon hermétique genre canette de bière.

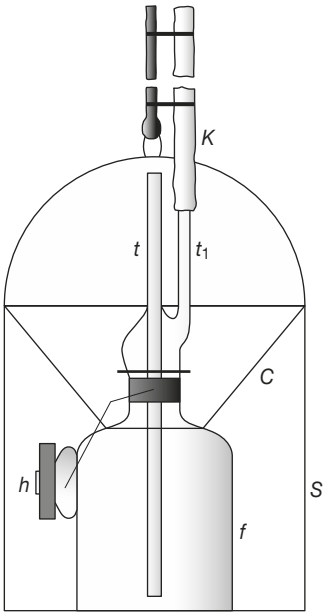
Placer le flacon dans un seau (S) et l'y maintenir par un collier amovible en fil de fer (C).

Lorsqu'il s'agit d'un prélèvement dans un puits, adapter au tube latéral (t_1) un tuyau de caoutchouc (*K*), tandis que le tube central (*t*) sert à l'entrée de l'eau dans le flacon.

Attacher le seau à une corde et le descendre dans le puits de façon que l'extrémité libre du tube de caoutchouc (*K*) s'élève à peine au-dessus de la surface de l'eau. Le flacon se remplit alors par le tube (*t*) sans barbotage.

Dès que le flacon est plein, retirer le système, enlever rapidement le rodage et boucher hermétiquement.

Dans le cas d'un prélèvement au déversoir, employer le même flacon mais adapter le tube de caoutchouc (*K*) directement à la tubulure centrale (*t*) et introduire son extrémité libre dans le tuyau de déversement.



Appareil de P. Urbain pour prélèvement d'eau

☐ **Réactifs**

– Solution saturée de chlorure de baryum.
– Solution d'iode 0,1 *N*.
– Solution d'amidon soluble à 10 g/L.
– Carbonate ou sulfate de plomb pur.
– Solution de nitrate d'argent 0,1 *N*.
– Solution de plombite de sodium :

sous acétate de plomb	10 mL
eau distillée	50 mL
solution d'hydroxyde de sodium (d = 1,336)	50 mL

Chauffer jusqu'à dissolution et laisser refroidir.

– Papier à l'acétate de plomb.
– Ammoniaque concentrée à 32 %.
– Solution de cyanure de potassium 0,1 *N*.

■ Mode opératoire

Prélever 250 mL d'eau sulfureuse et précipiter les sulfates et les carbonates par 5 mL d'une solution saturée de chlorure de baryum. Filtrer à l'abri de l'air. Le filtrat ne doit plus précipiter par 1 ou 2 gouttes de solution de chlorure de baryum.

Dosage du soufre total

Prélever dans un bécher 51 mL du filtrat (eau débarrassée des sulfates et des carbonates), ce qui correspond à 50 mL d'eau sulfureuse primitive.

Ajouter 1 mL de solution d'amidon et titrer avec la solution d'iode 0,1 *N* jusqu'à coloration bleue. Soit *n* le nombre de millilitres de solution d'iode 0,1 *N* versés.

Le soufre total (hydrogène sulfuré, sulfures, thiosulfates) exprimé en grammes de soufre par litre est égal à $n \times 0{,}032$.

Dosage de l'hydrogène sulfuré libre

Prélever dans un flacon fermé par un bouchon à deux tubulures 51 mL du filtrat précédent. Plonger le flacon dans un bain d'eau à 60 °C. Faire passer par une tubulure qui arrive jusqu'au fond du ballon, un courant d'hydrogène lavé qui entraîne l'hydrogène sulfuré par l'autre tubulure. Arrêter le courant gazeux lorsque le gaz à la sortie du flacon ne noircit plus une goutte de plombite de sodium ou un papier à l'acétate de plomb.

Plonger alors le flacon dans de l'eau froide, tout en maintenant le courant d'hydrogène. Après refroidissement, ajouter 1 mL de solution d'amidon et titrer par la solution d'iode 0,1 *N* jusqu'à coloration bleue. Soit n_1 le nombre de millilitres d'iode 0,1 *N* versés.

$n_1 \times 0{,}032 = P$ grammes de soufre. La différence entre le soufre total et *P* représente le soufre de l'hydrogène sulfuré.

Dosage des sulfures, des thiosulfates et des sulfites

Introduire dans un flacon bouché émeri, 60 mL du filtrat initial. Ajouter 2 ou 3 g de carbonate ou de sulfate de plomb pour neutraliser l'hydrogène sulfuré et les sulfures. Filtrer. Prélever 51 mL de ce nouveau filtrat. Ajouter 1 mL de solution d'amidon et titrer par la solution d'iode 0,1 *N* jusqu'à coloration bleue.

Soit n_2 le nombre de millilitres d'iode 0,1 *N* versés. *H* (soufre des thiosulfates et des sulfites) = $n_2 \times 0{,}032$; $P - H$ = soufre des sulfures. Si l'on veut déterminer le soufre des sulfites, séparer les 51 mL du filtrat en deux parties égales. Dans l'une, doser le soufre des thiosulfates et des sulfites, comme précédemment. Dans l'autre, complexer les sulfites par du formol et titrer par la solution d'iode 0,1 *N*. Le volume de solution d'iode ainsi versé correspond au soufre des thiosulfates. Par simple différence, calculer le soufre des sulfites.

Pour exprimer les sulfites en SO_3^{2-} (g/L), multiplier le soufre des sulfites exprimés en S^{2-} (g/L) par 2,5.

Pour exprimer les thiosulfates en SO_3^{2-} (g/L), multiplier le soufre des thiosulfates exprimés en S^{2-} (g/L) par 3,5.

Dosage des polysulfures

Le dosage s'effectue sur l'eau primitive. Introduire 50 mL d'eau sulfureuse dans un bécher. Ajouter 10 mL d'ammoniaque et 20 mL d'une solution de nitrate d'argent 0,1 *N*. Compléter à 100 mL à l'aide d'eau distillée. Prélever 50 mL de filtrat et doser par une solution de cyanure de potassium 0,1 *N* l'argent résiduel. Déduire l'argent combiné à l'état de sulfure d'argent et par suite le soufre qui lui est uni et qui correspond au soufre de l'hydrogène sulfuré des mono- et polysulfures.

Soit *X* le nombre de millilitres de cyanure de potassium 0,1 *N* versés. Le soufre S^{2-} des polysulfures (g/L) = $(20 - X) \times 0{,}032 \times 2$.

Remarques

– Dans le cas où les dosages ne pourraient se faire immédiatement, conserver l'échantillon sous atmosphère d'azote.

– On peut obtenir une meilleure précision en utilisant la solution d'iode 0,1 *N* en excès et en titrant cet excès par une solution de thiosulfate de sodium.

– Certains auteurs expriment leurs résultats d'une façon plus particulière, soit en indice de sulfuration, soit en degré sulfhydrométrique ou encore directement en teneur de *S* des éléments soufrés.

L'indice de sulfuration est le nombre de millilitres de solution d'iode 0,1 *N* que nécessite la saturation de 1 000 mL d'eau à analyser.

Le degré sulfhydrométrique est le nombre de milligrammes d'iode absorbé par 1 litre d'eau à analyser.

11.3 Composés ionisés et réducteurs à base de soufre

Cette méthode permet :

– le dosage sélectif des espèces du soufre en solution :

- sulfures $\Sigma[H_2S]$
- mercaptans $\Sigma[RS^-]$
- thiosulfates $[S_2O_3^{2-}]$
- sulfites $[SO_3^{2-}]$

– et le dosage par différence des polysulfures $\Sigma(n-1)\ [S_n^{2-}]$ pour des valeurs de soufre comprises entre 10^{-3} mol/L et 10^{-6} mol/L ;

– le dosage total des sulfures présents en travaillant en milieu basique ;

– le travail à la température propre à l'échantillon jusqu'à 85 °C ;

– la conservation de l'échantillon à l'abri de l'air durant toute la durée de la manipulation en travaillant sous atmosphère inerte (azote) ;

– son application sur le terrain à l'aide d'un matériel entièrement autonome, plus simple et moins onéreux.

■ Principe

En présence de sels mercuriques et en milieu basique, les sulfures (organiques et minéraux) et les polysulfures précipitent, tandis qu'en milieu neutre les thiosulfates et les sulfites forment des complexes stables. Les réactions sont suivies potentiométriquement à l'aide d'une électrode spécifique des sulfures à membrane Ag/Ag_2S.

□ Prélèvement

Le prélèvement revêt une grande importance du fait de l'instabilité des solutions des espèces réductrices du soufre en présence d'oxygène. Pour de faibles teneurs de sulfures, de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-6} mol/L, ce phénomène devient critique.

Il importe en premier lieu de travailler sur une eau limpide débarrassée de ses floculats par une filtration sous pression d'azote, en boîte à gants gonflable, sur membrane de 0,45 μm de porosité.

L'utilisation d'un vase isolant (type thermos) permet le maintien de l'eau à sa température propre tout en évitant une éventuelle entrée d'air grâce à son remplissage à débordement. Prélever l'échantillon directement dans le vase à l'aide d'une seringue en polyéthylène munie d'un embout en PTFE.

Déterminer la quantité d'eau introduite dans la cellule par pesée sur une balance de précision. La prise d'essai peut aussi se faire à l'aide d'une fiole, jaugée et étalonnée à la température de l'échantillon.

☐ **Matériel spécial**

- Poste de titrage avec une burette électrique de 5 mL.
- *p*H-mètre.
- Petit bain-marie à circulation d'eau.
- Cellule électro-chimique à jaquette thermostatique.
- Appareil de filtration sous pression et une boîte à gants gonflable.
- Électrode spécifique des sulfures à membrane Ag/Ag_2S.
- Électrode de référence à double jonction $Ag/AgCl\ KNO_3$.
- Électrode de *p*H de précision.
- Tube à dégazage relié à une bouteille d'azote très pur.
- Agitateur magnétique.
- Verrerie courante.

☐ **Réactifs**

- Solution de chlorure mercurique à 2,715 g/L :

chlorure mercurique ($HgCl_2$)		2,715 g
eau distillée	*q.s.p.*	1 000 mL

- Solution d'hydroxyde de sodium 2 *N*.
- Solution d'acide acétique 1/5 (V/V).

■ Mode opératoire

Régler le bain-marie à la température de l'échantillon et mettre en route la circulation d'eau dans la jaquette. Placer l'électrode spécifique, l'électrode de référence et l'embout de la microburette dans la cellule. Après stabilisation de la température, introduire 2,5 mL de solution d'hydroxyde de sodium 2 *N* dans la cellule, laisser la solution sous barbotage d'azote pendant 5 minutes au minimum. Ajouter la prise d'essai *V* (environ 50 mL) ; le potentiel de l'électrode spécifique doit se situer aux environs de – 750 mV pour un *p*H de 13, commencer alors le titrage en introduisant le réactif mercurique au moyen de la microburette. Suivre l'évolution du potentiel de l'électrode par rapport à l'électrode de référence au fur et à mesure de l'introduction du réactif mercurique.

Le premier point d'équivalence, caractéristique des sulfures, se produit vers – 600 mV pour un volume de réactif v_1 ; noter celui-ci tout en poursuivant le titrage. Vers – 350 mV, un second point d'équivalence caractéristique des mercaptans se produit avec un volume de réactif v_2, le noter et arrêter immédiatement l'introduction du réactif. Ajuster le *p*H de l'échantillon entre 7 et 8 à l'aide de la solution d'acide acétique 1/5.

Reprendre le dosage, la présence de thiosulfates est caractérisée par un potentiel encore légèrement négatif ; son point d'équivalence se situe vers

– 20 mV : noter le volume v_3 caractéristique des thiosulfates tout en poursuivant le titrage. En présence de sulfites, un saut de potentiel dont le point d'équivalence se situe vers + 130 mV est observé. Noter le volume de réactif v_4 .

Expression des résultats

La teneur en soufre des différents composés exprimée en grammes par litre est obtenue par les calculs suivants

$$\text{sulfures en [S]} = 0{,}32 \times \frac{v_1}{V}$$

$$\text{mercaptans en [S]} = 0{,}32 \times \frac{v_2 - v_1}{V}$$

$$\text{thiosulfates en } [S_2O_3^{2-}] = 2{,}24 \times \frac{v_3 - v_2}{V}$$

$$\text{sulfites en } [SO_3^{2-}] = 1{,}6 \times \frac{v_4 - v_3}{V}$$

v_1, v_2, v_3, v_4, sont exprimés en mL.
V est exprimé en mL.

Remarques

– Lorsque la prise d'essais V est déterminée par pesée, les résultats seront exprimés en mol/kg.

– La précision obtenue est de l'ordre de 1 % sur $[S_2O_3^{2-}]$, $[SO_3^{2-}]$, inférieur à 1 % pour $\Sigma[H_2S] + [S_n^{2-}]$ et $\Sigma[RS^-]$ pour des teneurs comprises entre 10^{-3} mol/L et 10^{-6} mol/L.

– En l'absence de soufre organique, le point d'inflexion caractéristique des sulfures se déplace vers – 400 mV.

– Dans les eaux naturelles et compte tenu du *p*H des solutions, la somme des différentes espèces se réduit à

$$\Sigma\,[H_2S] = [H_2S] + [HS^-]$$

– En mesurant avec précision le *p*H, la température et en appliquant la loi d'action de masse, on en déduit la répartition entre espèces.

– Lorsque la teneur en sulfites est inférieure à 10^{-4} mol/L, les deux points d'équivalence correspondant aux formations des deux complexes se trouvent très rapprochés l'un de l'autre, rendant ainsi la détection des thiosulfates et sulfites peu précise. Dans ce cas, il est nécessaire de recommencer entièrement la manipulation après avoir complexé le sulfite par un ajout de formaldéhyde. Le soufre correspondant aux sulfites apparaît alors par différence entre la valeur des thiosulfates dans les deux opérations.

11.4 Sulfite et thiosulfate par chromatographie ionique

De nombreux anions peuvent être déterminés individuellement ou simultanément par chromatographie ionique.

Les ions thiosulfates sont dosables simultanément avec les ions iodures et thiocyanate.

Les domaines de travail varient selon le détecteur utilisé :

Sulfite (SO_3^{2-}) :	0,1 à 50 mg/L	– détecteur conductimétirique (CD)
	0,5 à 50 mg/L	– détecteur ultraviolet (UV) (λ = 205 à 220 nm)
Thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$) :	0,1 à 50 mg/L	(CD) ou (UV) 205 à 220 nm ou détecteur ampérométrique (AD) – 0,7 à 1,1 V

■ Principe

Se reporter au § A-7.1.3.

Les anions sont séparés au moyen d'une colonne échangeuse d'anions de faible capacité, utilisée comme phase stationnaire.

L'addition d'agents organiques, tels que l'hydroxy-4-benzonitrile, ou de solvants organiques à l'éluant peut accélérer l'élution ou réduire l'effet de traînée des pics, notamment pour l'analyse des ions fortement polarisables, tels que les ions thiosulfate.

Le choix des éluants est fonction du type de colonne de séparation et du détecteur employés.

Il convient de suivre les instructions du constructeur de la colonne, des exemples d'éluants sont donnés au § A-7.1.3.

Cas particuliers des sulfites

Prendre toutes les précautions utiles pour les préparations des solutions étalons et la conservation des échantillons, les sulfites s'oxydent très facilement par l'oxygène dissous dans l'eau ou l'oxygène de l'air.

Stabiliser les échantillons à pH ≅ 10 avec de la soude et ajouter 1 ml de formaldéhyde à 37 % par litre d'eau.

Éliminer si nécessaire les interférences dues aux anions quand les rapports massiques ion interférent/ion dosé sont supérieurs à :

1 000 pour SO_4^{2-}.

100 pour PO_4^{3-}.

50 pour NO_3^- et Cl^-.

10 pour F^-.

Les chlorures peuvent être éliminés sur cartouche d'échangeur de cations sous forme Ag^+.

Méthode de référence

Norme NF EN ISO 10304-3. Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 3 : dosage des ions chromate, iodure, sulfite, thiocyanate et thiosulfate. Octobre 1997.

11.5 Polysulfures

Les polysulfures [S_n^{2-}] peuvent être estimés indépendamment sous la forme $\Sigma(n-1)$ [S_n^{2-}].

■ Principe

À chaud et en présence d'un excès de sulfite SO_3^{2-}, les polysulfures [S_n^{2-}] réagissent pour donner une quantité équivalente de monosulfure et $(n-1)$ fois plus de thiosulfates. De cette augmentation en thiosulfates, on déduit

$$\Sigma(n-1)\ [S_n^{2-}]$$

□ Réactifs

– Se reporter à la méthode précédente.

– Solution de formaldéhyde à 50 %.

– Solution de sulfite de sodium à 12,6 g/L :

sulfite de sodium	12,6 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

■ Mode opératoire

À 50 mL de prise d'essai, ajouter 0,5 mL de solution de sulfite de sodium. Porter la solution pendant 10 minutres à 70 °C, puis procéder comme dans le cas précédent après avoir ajouté 52 mL de solution de formaldéhyde pour complexer l'excès de sulfite.

■ Expression des résultats

Se reporter à la méthode précédente (A.11.3).

12 • RÉSULTATS DE L'ANALYSE DE L'EAU

■ **Préambule**

Le travail analytique étant terminé, il convient de présenter les résultats de telle façon qu'ils soient directement utilisables par le lecteur.

La première question qui se pose est le choix d'un type d'unité. L'habitude s'est répandue d'exprimer les résultats en milligrammes par litre. Cette façon de faire est incontestablement celle qui est la plus à la portée de tous et la plus significative. Pour certains produits toxiques ou micro-polluants, le microgramme (μg) est utilisé. Par contre, chaque fois qu'il s'agit d'établir une balance ionique, de pratiquer un traitement, l'emploi du milliéquivalent par litre est recommandé, surtout s'il s'agit d'ions en quantités significatives.

Les résultats qui suivent le long travail systématique de l'analyse de l'eau comportent une certaine marge d'incertitude tant du point de vue qualitatif que quantitatif. Mis à part les seuils de détection des méthodes utilisées, le problème qui se pose à l'analyste repose principalement sur l'approximation du résultat chiffré qu'il a obtenu. Une fois les limites de confiance connues, il cherchera à éliminer les erreurs grossières tout en tenant compte de celles liées à la technique analytique elle-même comme l'action des interférences, la sensibilité de l'appareil de mesure, l'habitude de l'opérateur, etc.

Dans la recherche de la précision analytique, l'analyste s'aidera des possibilités des méthodes statistiques.

12.1 Unités de mesure et notion d'équivalence

12.1.1 Notion d'équivalence et de normalité

■ **Équivalent-gramme**

Pour un élément en solution, l'équivalent-gramme correspond au quotient de sa masse atomique (ou de sa masse moléculaire) par sa valence. Il représente la quantité de matière d'une entité chimique contenant une mole de charge élémentaire positive ou négative.

Ainsi, pour un ion monovalent tel que le sodium (Na^+), l'équivalent-gramme correspond à 23 g (masse molaire de Na), alors que pour un ion divalent comme l'ion calcium (Ca^{2+}), l'équivalent-gramme est de 20 g (40/2). On peut ainsi écrire comme des équivalents électrochimiques 1 mole de Na^+ ou 1 mole de ½ Ca^{2+}).

Pour une molécule d'acide sulfurique H_2SO_4, qui libère 2 charges positives (2 H^+) et 2 charges négatives (SO_4^{2-}), l'équivalent-gramme correspond à la

moitié de la masse molaire. Il en est de même pour le carbonate de calcium, pour lequel l'équivalent-gramme correspond à 0,5 mole, soit 50 g.

Les teneurs en constituants des eaux s'expriment en équivalent (Eq), mais le plus souvent en milliéquivalents (mEq).

■ Normalité et molarité

Une solution normale est une solution susceptible de libérer 1 mole d'ions H^+ pour une solution acide ou de réagir avec une mole d'ions H^+ pour une solution basique.

Une solution normale (N) contient donc 1 équivalent-gramme du corps considéré par litre de solution, alors qu'une solution molaire contient 1 mole du corps considéré par litre de solution.

Ainsi une solution normale d'hydroxyde de sodium (NaOH) contient 1 mol/L d'hydroxyde de sodium (soit 40 g/L), alors q'une solution normale d'acide sulfurique (H_2SO_4) contient 0,5 mol/L d'acide sulfurique (soit 48 g/L). Une solution molaire d'acide sulfurique, qui contient 2 équivalents par litre de solution est donc 2 fois normale (2N).

12.1.2 Unités pondérales

À côté des unités scientifiques comme la mole par litre (mol/L), les unités pondérales sont très largement utilisées. Suivant la concentration des éléments analysés on utilisera le g/L ou l'un de sous multiples : mg/L, μg/L, ng/L, et parfois pg/L.

Dans les ouvrages anglo-saxons, on utilise souvent :

– le ppm (ou partie par million), qui devrait faire référence à un rapport entre des unités identiques de masses ou de volumes (par exemple mg/kg), correspond en fait au mg/L (millionième partie d'un litre), la masse volumique de l'eau pure (1 kg/L) permettant cette approximation,

– par analogie, le ppb (partie par billion), qui correspond au μg/L, voire même le ppt (partie par trillion), qui correspond au ng/L (cf. § H-1.2).

12.1.3 Degré français

La notion de degré français (°F) est encore largement utilisée pour exprimer les concentrations des différents éléments présents.

Par définition, le degré français correspond à une concentration égale à 1/5 de milliéquivalents par litre :

$$1°F = 0{,}2 \text{ mEq/L soit : } 1 \text{ mEq/L} = 5 °F$$

Cette unité a été choisie pour obtenir une correspondance simple avec une teneur pondérale en carbonate de calcium, le mg/L de $CaCO_3$ (ou ppm $CaCO_3$), étant une unité encore en usage dans le traitement des eaux. En effet, comme 1 milliéquivalent de carbonate de calcium est égal à 50 mg/L, on aura :

$$1°F = 0{,}2 \text{ mEq/L} = 10 \text{ mg/L } CaCO_3 = 10 \text{ ppm } CaCO_3$$

En Allemagne, on utilise aussi la notion de degré (degré allemand) mais la correspondance a été établie avec le ppm de CaO. Il s'ensuit que :

$$1 \text{ degré allemand} = 10 \text{ ppm CaO} = 1{,}786 °F$$

12.1.4 Titres propres aux analystes de l'eau

Pour représenter globalement certaines caractéristiques des eaux (dureté, alcalinité…), il est habituel d'utiliser les titres TH, TA/TAC, SAF, développés au paragraphe A.5 et dont les résultats s'expriment en mEq/L ou en °F.

12.2 Contrôle des résultats de l'analyse de l'eau

Il n'existe pas de recette absolue pour la vérification des résultats analytiques. D'autre part, il ne faut pas que la méthode de contrôle utilisée introduise par elle-même des sources d'erreur et un travail trop important. La méthode la plus satisfaisante est celle de l'établissement du bilan ionique ; elle peut être recoupée par la méthode utilisant les titres ou par la mesure de la conductivité. Certains types d'eau de minéralisation particulière pourront faire l'objet de contrôles complémentaires avec d'autres méthodes.

Dans ce manuel, nous avons fréquemment attiré l'attention sur la nécessité d'avoir des prélèvements homogènes et significatifs. À propos de chaque élément, nous avons insisté sur les conditions particulières de stockage de l'échantillon pour lui conserver son intégrité. Il est donc évident que les vérifications analytiques seront sans objet si ces conditions de départ n'ont pas été respectées. Les controverses apparaissant entre laboratoires ayant travaillé simultanément n'ont souvent pas d'autre origine.

Les méthodes indiquées permettent d'identifier des erreurs importantes ou l'omission d'un ion en quantité significative, c'est-à-dire supérieure à 5 % de la somme des ions de même signe ; pratiquement, l'écart des résultats ne devrait pas dépasser 2 %. D'une façon générale, on n'utilise pour les contrôles que les éléments majeurs à savoir quatre anions (HCO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^-, NO_3^- et quatre cations (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+, K^+) ; certains éléments toxiques ou non présents aux teneurs habituellement rencontrées comme le plomb, le fluor, le cuivre, et le fer, etc., échappent donc à ces méthodes de vérification.

12.2.1 Méthode du bilan ionique

Le contrôle des résultats de l'analyse d'une eau naturelle peut être effectué par l'intermédiaire du bilan ionique : c'est-à-dire par la vérification de l'équation d'électroneutralité. En théorie, et pour un *p*H voisin de 7, la somme des anions exprimée en milliéquivalents doit correspondre exactement à la somme des cations exprimée de la même manière.

Somme des cations (mEq/L) = Somme des anions (mEq/L).

Soit :

$$[Ca^{2+}] + [Mg^{2+}] + [Na^+] + [K^+] =. [HCO_3^-] + [Cl^-] + [NO_3^-] + [SO_4^{2-}]$$

dans le cas d'une eau ne contenant pas d'autres éléments majeurs que ceux consignés dans cette équation.

En pratique, il existe presque toujours un écart entre ces deux chiffres.

Cette différence ne doit pas dépasser 0,3 mEq pour une concentration d'anions ou de cations de l'ordre de 6 mEq ou 1 mEq quand elle atteint ou dépasse 60 mEq. Si la différence est supérieure à ces chiffres, il est indispensable de procéder à des vérifications analytiques.

Un exemple de calcul du bilan ionique est présenté sur le tableau ci-dessous, où le calcul de la somme des cations (ou salinité totale cationique) et de celle des anions (ou salinité totale anionique), exprimée en unités équivalentes (soit en mEq/L ou en °F), met en évidence un bon bilan ionique, avec un écart inférieur à 3 %.

Élément	Concentration	*Masse atomique*	Concentration		
	mg/L	g	mEq/L	°F	
Cations					
Ca^{2+}	88,8	*40*	4,44	22,2	Somme des cations = 5,38 mEq/L = 26,9 °F
Mg^{2+}	7,2	*24,3*	0,59	2,9	
Na^{+}	6,9	*23*	0,30	1,5	
K^{+}	2,3	*39,1*	0,06	0,3	
Somme des cations			5,38	26,9	
Anions					
HCO_3^-	230	*61*	3,77	18,9	Somme des anions = 5,22 mEq/L = 26,2 °F
Cl^-	29,8	*35,5*	0,84	4,2	
SO_4^{2-}	24,5	*96*	0,51	2,6	
NO_3^-	6,2	*62*	0,10	0,5	
Somme des anions			5,22	26,2	

Cependant, la vérification de l'analyse par le bilan ionique ne peut être considérée comme absolument sûre car la concordance des résultats peut avoir pour origine deux erreurs agissant en sens contraire.

12.2.2 Méthode utilisant les titres

Dans le tableau précédent, on peut remplacer certains groupes d'éléments par les titres correspondants (exprimés en °F ou en mEq/L), à savoir :

– TH = $[Ca^{2+}] + [Mg^{2+}]$
– TAC = $[HCO_3^-]$
– SAF = $[Cl^-] + [NO_3^-] + [SO_4^{2-}]$

Ce qui permet d'effectuer d'autres vérifications sur les résultats, que l'on peut résumer sur le tableau ci-après.

Cations		Anions	
Ca^{2+}	TH	HCO_3^-	TAC
Mg^{2+}		Cl^-	SAF
Na^+	Somme des alcalins	SO_4^{2-}	
K^+		NO_3^-	

Somme des cations	=	**Somme des anions**
TH + Somme des alcalins	=	**TAC + SAF**

12.2.3 Méthodes utilisant la conductivité

En principe, la conductivité totale d'une eau peut être calculée à partir de la concentration des sels présents par addition des conductivités correspondant à chacun des ions. On peut utiliser pour ce calcul le tableau suivant indiquant la conductivité des principaux ions rencontrés dans les eaux naturelles. L'analyse chimique de l'eau permet ensuite de calculer la somme des conductivités des différents ions présents, qui correspond à la conductivité totale.

Ions	Conductivité (25 °C) (µS/cm)	
	par mEq/L	par mg/L
Calcium	52,0	2,60
Carbonate	84,6	2,82
Chlorure	75,9	2,14
Hydrogénocarbonate	43,6	0,715
Magnésium	46,6	3,82
Nitrate	71,0	1,15
Potassium	72,0	1,84
Sodium	48,9	2,13
Sulfate	73,9	1,54

Mais cette relation entre la conductivité et la concentration en sels n'est vérifiée que pour de faibles concentrations, en raison de la diminution du degré de dissociation ionique des sels aux concentrations élevées. Il est donc préférable de procéder à une dilution de l'échantillon pour déterminer sa conductivité, en principe quant la valeur mesurée est supérieure à 100 µS/cm.

Ces estimations sont à rapprocher de la relation empirique (obtenue sur des eaux de composition et de natures différentes présentant une minéralisation moyenne), encore parfois utilisée pour évaluer la minéralisation globale d'une eau, et applicable pour des eaux présentant une conductivité comprise environ entre 300 et 800 μS/Cm :

Minéralisation (mg/L) = 0,688 x conductivité (μS/cm)

L'analyse chimique peut être considérée comme satisfaisante si la conductivité ainsi calculée n'est pas supérieure de plus de 1,5 % ni inférieure de plus de 2 % à la mesure de la conductivité diluée. Dans le cas contraire, il y a lieu de procéder à des vérifications analytiques. Cette méthode n'est pas applicable :

– si la conductivité est inférieure à 90 μS/cm ;

– si des ions qui ne figurent pas dans le tableau sont présents en quantité significative ;

– si le *p*H est inférieur à 6, ou supérieur à 9, les conductivités dues aux ions hydrogène et hydroxyle étant très grandes par rapport à celles des autres ions.

12.3 Représentation graphique des résultats d'une analyse de l'eau

De nombreux modes de représentation des résultats peuvent être choisis pour permettre une lecture plus rapide et plus informative. Une représentation sous forme de tableau, en séparant les anions et les cations et en indiquant les valeurs en mg/L, mais aussi en unités additives (mEq/L ou °F) constitue une première étape intéressante.

L'utilisation de diagrammes apporte des informations complémentaires sur certaines caractéristiques des eaux et leurs propriétés et dans certains cas permet d'étudier l'effet de certains traitements sur ces caractéristiques (cf. suppléments en ligne sur www.dunod.com pour les diagrammes vertical logarithmique et en colonne).

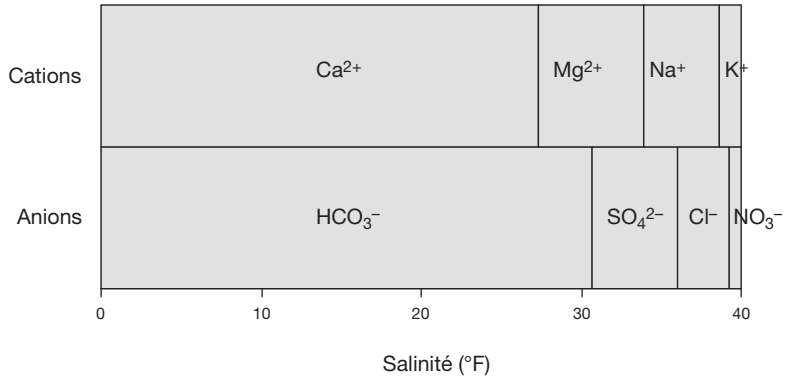
12.3.1 Diagrammes à barres

L'utilisation de diagrammes en colonnes ou en lignes, tels que le diagramme dit « diagramme à barres » constitue une méthode de représentation simple et intéressante. Les concentrations des cations et les anions, exprimées en mEq/l ou en °F sont affichées sur 2 lignes (ou sur 2 colonnes), en cumulant les valeurs pour mettre en évidence la salinité totale de l'eau. Même si les ions en solution dans l'eau n'existent pas sous forme combinée, l'ordre de présentation choisi permet la prise en compte des affinités réciproques les plus communément rencontrées dans les eaux naturelles, avec l'ordre suivant :

– pour les cations : Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+} puis K^{+},

– pour les anions : HCO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^- puis NO_3^-, ou pour des eaux de pH supérieur à 8 : OH^-, CO_3^{2-}, HCO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^-, NO_3^-.

C'est la schématisation adoptée sur le graphique suivant pour une eau dont la salinité totale (anionique et cationique) est de 40 °F.



L'usage de ce diagramme permet de visualiser certaines notions, et en particulier :

– la dureté carbonatée : teneur en hydrogénocarbonates (et éventuellement carbonates) de Ca et de Mg),

– la dureté non carbonatée (ou dureté permanente) : teneur en Ca et Mg correspondant à des anions d'acides forts (SO_4^{2-}, Cl^- ou NO_3^-).

La construction de ce diagramme est encore utile pour suivre visuellement certains traitements (adoucissement/décarbonation par la chaux ou la soude, échange d'ions, précipitation).

12.3.2 Équilibres calco-carboniques

Les diagrammes de Hallopeau et Dubin ou de Legrand et Poirier précisent le caractère agressif ou entartrant d'une eau et permettent de représenter l'évolution de l'eau sous l'effet de traitements (remise à l'équilibre calco-carbonique, coagulation/floculation, oxydation). Ces éléments sont traités en détail au § A-6.

12.4 Présentation des résultats et bulletins d'analyse

Pour la présentation des résultats, il convient d'être clair et compréhensible. Il est important de préciser différents éléments de l'analyse, tels que :

– délai et conditions de conservation des échantillons avant analyse ;

– date de mise en analyse ;

– référence des méthodes d'analyse (méthode normalisée, méthode interne…) ;

– substances analysées (pour les pesticides par exemple, il peut être judicieux de répartir les substances actives par groupe d'usage ou par famille) ;

– rendement d'extraction ;

– limite de quantification.

Par ailleurs, il est indispensable de consigner des renseignements qui pourront être très utiles pour la constitution d'un dossier.

12.4.1 Prélèvement et expédition des échantillons

Le plus grand soin doit être apporté au prélèvement de l'eau destinée à l'analyse : qu'il soit ponctuel, instantané, composite ou proportionnel, le prélèvement doit être représentatif.

En règle générale, une concertation avec le laboratoire chargé des analyses est essentielle, notamment pour déterminer le nombre et la nature des flaconnages, mais aussi les modalités de transport.

Utiliser le flaconnage fourni par le laboratoire, il est adapté aux besoins (se reporter au § A-1.3) :

– pour les flacons non conditionnés, rincer 2 à 3 fois avec l'eau, puis remplir,

– pour les flacons conditionnés, prélever directement l'eau sans faire déborder.

La manipulation des flacons conditionnés doit faire l'objet de précautions particulières, pour éviter toute perte de réactif et tout incident (brûlures…).

Lors du prélèvement, il est important d'éviter toute source de contamination de l'échantillon (gaz d'échappement de moteurs, fumée de cigarettes, parfum…).

Bien se laver les mains et ne pas toucher l'intérieur du flacon et du bouchon, notamment lors d'un prélèvement pour analyse microbiologique. Désinfecter le robinet (flambage) et laisser couler l'eau abondamment avant de prélever.

Identifier correctement le flaconnage et relever toutes les informations utiles pour l'interprétation des résultats, notamment :

– référence de l'échantillon (nature de l'eau) ;

– date et heure du prélèvement ;

– lieu de prélèvement.

Le stockage et l'expédition des échantillons au laboratoire d'analyse doivent se faire dans les délais les plus courts.

En général, les échantillons sont stockés au froid (2 à 4 °C) et transportés en glacières avec pains de glace ou système intégré au véhicule.

Des témoins permettent de vérifier que la température de l'enceinte est satisfaisante à la réception au laboratoire ; ce dernier peut refuser de pratiquer l'analyse si la tolérance est dépassée. Les échantillons sont enregistrés au plus vite, en général par le système informatique (LIMS) propre au laboratoire, et sont répartis dans les services analytiques concernés, éventuellement stockés en chambre froide avant analyse.

Les échantillons d'eaux propres (eaux potables notamment) ne seront pas stockés avec les échantillons d'eaux résiduaires, boues… il faut absolument éviter tout risque d'intercontamination lors du stockage.

12.4.2 Exemple de renseignements à fournir pour une analyse de l'eau

Selon la demande, les renseignements à fournir par le préleveur seront plus ou moins détaillés :

1) Demandeur de l'analyse (société, administration, particulier…)
2) Objet de la demande d'analyse (source à capter, appréciation d'une eau de boisson, pollution, contrôle, etc.)
3) Référence du point d'eau (nom, lieu, coordonnées GPS…
4) Origine de l'eau (source, puits, sondage, rivière, citerne, réseau, piscine, etc.)
5) Nature du prélévement : ponctuel, moyen, asservi au détail…
6) Débit : dans le cas d'une nappe souterraine, préciser la profondeur et l'épaisseur de cette nappe le débit de pompage et la durée
7) Nature géologique des terrains traversés
8) Préciser les causes de souillures permanentes ou accidentelles auxquelles l'eau paraît exposée (ferme, fosse à fumier, étable, puits perdu, cimetière, usine, etc.), ainsi que la nature des cultures alentour, la nature des engrais utilisés et les épandages effectués
9) Enregistrer les remarques des usagers ou riverains concernant les variations d'aspect ou de débit, ainsi que des modifications provoquées par les pluies ou la fonte des neiges
10) Prendre la température de l'air et de l'eau à l'émergence. Noter les conditions atmosphériques (pluie, orage, sécheresse…)
11) Mesurer les paramètres à contrôler sur place
12) Usages auxquels l'eau est destinée (boisson, lavage, loisirs, abreuvage, irrigation, industrie, refroidissement, etc.)
13) Ville ou établissement que l'eau alimente; le cas échéant, le système d'épuration utilisé
14) Eau traitée ou non traitée
15) Date et heure du prélèvement
16) Nombre de flacons prélevés, volumes
17) Ouvrage en production ou à l'arrêt
18) Observations diverses

(Signature de l'agent chargé de prélever les échantillons)

12.4.3 Exemple de rapport d'analyse d'eau

Prélèvement réalisé par :

CONTROLE SANITAIRE
des
EAUX
D'ALIMENTATION

ANALYSE au CAPTAGE, en RESSOURCE Type : **RS**

LABORATOIRE N° d'enregistrement :

Unité Gestion Exploitation :
Installation :
Commune :
Point de prélèvement :
Exploitant :

Date de prélèvement : Heure :
Préleveur :
Type d'eau :

Paramètres	Méthodes analytiques	Résultats	Unités	Limites de qualité Eaux distribuées (*Décret 89-3)	(**Décret 2001-122
	** en vigueur => 24/12/2003*	*** à partir du 25/12/2003*	*L = Limites de qualité*	*R = Références*	
MESURES IN SITU					
Température de l'eau			°C	25	(R) 25
pH (in-situ)	*NF T 90-008*		unités pH		(R) 6,5 à 9
PARAMETRES ORGANOLEPTIQUES					
Coloration (quantitatif)	*NF T 90-034 (ancienne méthode)*		mg/l (Pt/Co)	15	(R) 15
Odeur Saveur (0 = r.a.s., sinon = 1)			qualitatif		
Turbidité néphélométrique NFU	*NF EN ISO 7027*		N.F.U.		(R) = 2
PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES					
Conductivité à 25°C	*NF EN 27888*		µS/cm		(R) 180 à 1000
Titre alcalimétrique complet (TAC)	*NF EN ISO 9963-1*		°F		
Titre hydrotimétrique : dureté (TH)	*NF EN ISO 7980*		°F		
Silice	*NF EN ISO 16264*		mg/l SiO2		
Calcium dissous (flamme) après filtr. 0,45 µm	*NF EN ISO 7980*		mg/l		
Magnésium dissous (flamme) après filtr. 0,45 µm	*NF EN ISO 7980*		mg/l	50	
Sodium dissous (flamme) après filtr. 0,45 µm	*NF T 90-019*		mg/l	150	(R) 200
Potassium dissous (flamme) après filtr. 0,45 µm	*NF T 90-019*		mg/l	12	
Carbonates (CO3)	*NF EN ISO 9963-1*		mg/l		
Hydrogénocarbonates (HCO3)	*NF EN ISO 9963-1*		mg/l		
Chlorures (chromatographie ionique)	*NF EN ISO 10304-1*		mg/l	200	(R) 250
Sulfates (chromatographie ionique)	*NF EN ISO 10304-1*		mg/l	250	(R) 250
Carbone Organique Total	*NF EN 1484*		mg/l C		
Demande biochimique en oxygène (DBO5j)	*NF EN 1899-2 (non dilué)*		mg/l O2		
Demande chimique en oxygène (DCO)	*NF T 90-101*		mg/l O2		
Matières en suspension : MES (filtration)	*NF EN 872 filtre fibre verre Sartor*		mg/l		
AGRESSIVITE - EQUILIBRE CALCOCARBONIQUE					
Equilibre calcocarbonique (0/1/2/3/4)			Qualit.		

Rapport d'Essai n° :

Paramètres		Résultats	Unités	Normes maxi	
PARAMETRES CONCERNANT LES SUBSTANCES INDESIRABLES					
Nitrates (en NO3) (chromatographie ionique)	*NF EN ISO 10304-1*		mg/l	50	(L) 50
Nitrites (en NO2)	*NF EN ISO 13395*		mg/l	0,1	(L) 0,1 TTP - 0,5 réseau
Ammonium (en NH4)	*NF EN ISO 11732*		mg/l	0,5	(R) 0,1
Azote Kjeldhal (en N)	*NF EN 25663*		mg/l	1	
Phosphore total (en P2O5)	*NF EN ISO 6878*		mg/l	5	
Cuivre total (atomisation thermique)	*FD T 90-112*		mg/l	1	(L) 2 (R) 1
Zinc total (atomisation thermique)	*FD T 90-112*		mg/l	5	
Fer dissous (0,45 µm) (Atomisation thermique)	*FD T 90-112*		µg/l	200	(R) 200
Manganèse total (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 15586*		µg/l	50	(R) 50
Aluminium total (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 12020*		µg/l	200	(R) 200
Fluorures	*NF EN ISO 10304-1*		mg/l	1,5	(L) 1,5
Bore (spectrométrie)	*XP T 90-041*		mg/l		(L) 1
Baryum (atomisation électrothermique)	*XP T 90-118*		mg/l		(L) 0,7
OLIGO-ELEMENTS ET MICROPOLLUANTS TOXIQUES					
Arsenic (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 15586*		µg/l	50	(L) 10
Cadmium (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 5961*		µg/l	5	(L) 5
Chrome total (atomisation électrothermique)	*NF EN 1233*		µg/l	50	(L) 50
Cyanures totaux	*NF EN ISO 14403 (flux)*		µg/l CN	50	(L) 50
Mercure (absorption moléculaire)	*NF EN 1483*		µg/l	1	(L) 1
Nickel (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 15586*		µg/l	50	(L) 20
Plomb (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 15586*		µg/l	50	(L) 25
Sélénium (atomisation électrothermique)	*NF EN ISO 15586*		µg/l	10	(L) 10
HYDROCARBURES POLYCYCLIQUES AROMATIQUES (H.P.A.)					
Hydrocarbures Polycycliques Aromatiques (6 subst.)	*NF EN ISO 17993*		µg/l	0,2	(L) 0,1 (4 sub)
- Fluoranthène	*NF EN ISO 17993*		µg/l		
- Benzo (3,4) Fluoranthène ¤	*NF EN ISO 17993*		µg/l		
- Benzo (11,12) Fluoranthène ¤	*NF EN ISO 17993*		µg/l		
- Benzo (3,4) Pyrène	*NF EN ISO 17993*		µg/l	0,01	(L) 0,01
- Benzo (1,12) Pérylène ¤	*NF EN ISO 17993*		µg/l		
- Indéno (1,2,3 - cd) Pyrène ¤	*NF EN ISO 17993*		µg/l		
DIVERS MICROPOLLUANTS ORGANIQUES					
Indice hydrocarbure	*NF EN ISO 9377-2*		µg/l	10	
Agents de surface anioniques (bleu méthylène)	*NF EN 903*		mg/l	0,2	
Phénols (indice phénol)	*NF EN ISO 14402*		mg/l C6H5OH		
PESTICIDES ORGANO-HALOGENES					
Aldrine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,03	(L) 0,03
Dieldrine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,03	(L) 0,03
Hexachlorobenzène	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
HCH Gamma (Lindane)	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Endosulfan Alpha	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Endosulfan Béta	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Flurochloridone	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Heptachlore	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		

Rapport d'Essai n° :

Paramètres		Résultats	Unités	Normes maxi	
PESTICIDES : TRIAZINES ET METABOLITES - ORGANOPHOSPHORES, AMIDES					
Atrazine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Atrazine Déséthyl	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Atrazine Déisopropyl (=simazine déséthyl)	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Simazine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Cyanazine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Desmétryne	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Métribuzine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Terbutylazine déséthyl	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Terbutryne	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Terbuthylazine	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Tébutame	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Acétochlore	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Alachlore	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Dimétachlore	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Métazachlore	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Métolachlor	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Chlorpyriphos éthyl	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Diméthoate	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Methylparathion	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Parathion	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Terbuphos	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Oxadixyl	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
PESTICIDES : UREES SUBSTITUEES - CARBAMATES					
1-(3,4-dichlorophényl)-urée	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
1-(4-isopropylphenyl)-urée	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
1-(3,4-dichlorophényl)-3-méthylurée	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
Déméthyl isoproturon	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
Diuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Chlortoluron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Carbétamide	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Isoproturon	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Méthiocarb	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Linuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Métabenzthiazuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Metoxuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Métobromuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
Monolinuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Monuron	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Néburon	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Carbendazime	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Carbaryl	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Carbofuran	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Méthomyl	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		(L) 0,1
PESTICIDES : ACIDES TOTAUX					
2,4-D total	*Hydrolyse Ext. L/S Dériv. GC/MS*		µg/l en acide	0,1	(L) 0,1
2,4-MCPA total	*Hydrolyse Ext. L/S Dériv. GC/MS*		µg/l en acide	0,1	(L) 0,1
2,4-MCPB total	*Hydrolyse Ext. L/S Dériv. GC/MS*		µg/l en acide	0,1	(L) 0,1
Mécoprop total	*Hydrolyse Ext. L/S Dériv. GC/MS*		µg/l en acide	0,1	(L) 0,1

Rapport d'Essai n° :

Paramètres		Résultats	Unités	Normes maxi	
PESTICIDES DIVERS ET TOTAUX					
Imazabéthabenz méthyl	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
Ioxynil total	*Hydrolyse Ext. L/S Dériv. GC/MS*		µg/l		
Ioxynil octanoate	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Terbuconazole	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Métaldéhyde	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Fenpropidin	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Bentazone	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
Bromacil	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Hexazinone	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Captane	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l		
Glyphosate	*Dérivation & anal. HPLC/Spectrof*		µg/l	0,1	(L) 0,1
AMPA	*Dérivation & anal. HPLC/Spectrof*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Prochloraze	*L/S (hl)-LC/MS-MS*		µg/l		
Trifuraline	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Oxadiazon	*Ext. L/L (CH2Cl2) Analyse GC/MS*		µg/l	0,1	(L) 0,1
Pesticides totaux			µg/l	0,5	(L) 0,5
ORGANO-HALOGENES VOLATILS					
Chloroforme	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		
Dichloromonobromométhane (CHBrCl2)	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		
Monochlorodibromométhane (CHBr2Cl)	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		
Bromoforme	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		
Trihalométhanes totaux	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		(L) 150
Trichloroéthylène	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		(R) 10 avec tétrachl*
Tétrachloroéthylène	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		(R) 10 avec trichlor*
1,1,1-Trichloroéthane	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		
Tétrachlorure de carbone	*NF EN ISO 10301(Ext Esp tête+GC/MS)*		µg/l		
PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES					
Coliformes totaux	*NF EN ISO 9308-1*		n/100 ml	0	(R) 0
Escherichia coli / 100ml	*NF EN ISO 9308-1*		n/100ml	0	(L) 0
Entérocoques /100ml-MS	*NF EN ISO 7899-2*		n/100 ml	0	(L) 0
PARAMETRES LIES A LA RADIOACTIVITE					
Activité Alpha Totale (OMS) (1)	*NF M 60-801*		Bq/l		
Activite Béta Totale (OMS) (1)	*NF M 60-800*		Bq/l		
Activité Tritium (3H) (1)	*NF M 60-802-1*		Bq/l		(R) 100
Dose Totale Indicative (radioactivité) (1)	*Calcul (/ 730 l eau / an)*		mSv/an		(R) 0,10
Activité Radium 226 (2)	*Spectro. Alpha*		Bq/l		
Activité Polonium 210 (2)	*Spectro. Alpha*		Bq/l		
Activité Uranium 234 (2)	*Spectro. Alpha*		Bq/l		
Activité Uranium 238 (2)	*Spectro. Alpha*		Bq/l		

Rapport d'Essai n° :

Paramètres	Résultats	Unités	Normes maxi

CONCLUSIONS

Date du Rapport d'Essai
Visa du laboratoire

Visa Sanitaire de la DDASS :

Rapport d'Essai n° :

13 • CONTRÔLE DE LA DÉSINFECTION

13.1 Désinfection

13.1.1 Objectifs de la désinfection

La désinfection a pour but d'éliminer les microorganismes pathogènes et de garantir l'absence de tout germe infectieux (bactérie ou virus) dans les eaux distribuées. Au contraire de la stérilisation, qui permet une destruction totale des germes présents, la désinfection peut laisser subsister quelques germes banals, sans risque pour la santé publique.

Les produits ou procédés de désinfection choisis devront selon les cas posséder un effet bactéricide et/ou virulicide leur permettant de détruire des germes, et éventuellement un effet rémanent qui repose sur le maintien d'une concentration en désinfectant, assurant la continuité de la désinfection dans les réseaux de distribution d'eaux potables ou dans les circuits d'eaux industrielles et limitant les risques de recroissance bactérienne. Pour certaines applications, on pourra encore rechercher un effet bactériostatique, qui empêche la multiplication des bactéries, sans les détruire.

Cette réduction des germes peut être obtenue par des procédés d'enlèvements physiques, tels que la coagulation/floculation ou la filtration (sur sable, anthracite, charbons actifs, diatomées ou sur membranes), ou encore par des procédés d'inactivation chimiques, faisant appel à des réactifs chimiques, comme les oxydants (chlore, ozone, dioxyde de chlore…) ou à différentes molécules à caractère non oxydant. L'inactivation par rayonnements UV peut également être utilisée.

13.1.2 Critères d'évaluation de la désinfection

- **Cinétique d'inactivation des microorganismes : loi de CHICK-WATSON**

La vitesse d'inactivation des germes par les réactifs désinfectants peut se mettre en équation comme on le fait pour une réaction chimique. Le modèle le plus couramment utilisé pour décrire la désinfection correspond à une loi cinétique de type Chick-Watson :

$$\frac{N}{N_0} = \exp^{-k.C^n.t}$$

N_0 : nombre de germes initialement présents.

N : nombre de germes après le traitement.

K : constante de vitesse de la réaction, qui dépend du désinfectant utilisé et de la létalité du microorganisme concerné dans les conditions opératoires mises en œuvre (pH, force ionique, température…).

C : concentration en désinfectant (ou dose de traitement dans le cas d'une irradiation UV par exemple), supposée constante pendant toute la durée de l'inactivation.

n : ordre de la réaction.

t : temps de contact entre le microorganisme et le désinfectant.

La constante « n » peut généralement être considérée comme étant égale à 1. La loi de CHICK-WATSON devient alors :

$$\log \frac{N}{N_0} = k.C.t$$

Calcul de l'abattement des germes

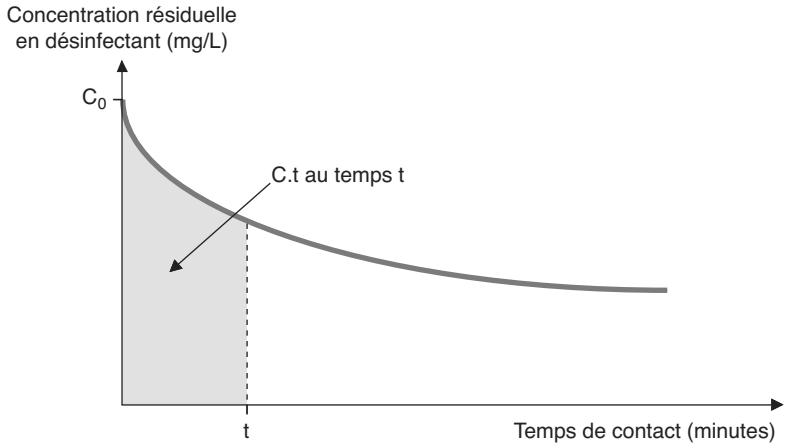
L'évaluation des critères de performance de la désinfection des eaux peut être assurée par la détermination des teneurs en organismes cibles (bactéries, virus, kystes de protozoaires…), afin d'atteindre les objectifs de réduction fixés par les textes réglementaires (eaux de consommation, eaux de piscines, eaux chaudes sanitaires, tours aéroréfrigérantes). En accord avec l'expression de la loi de CHICK-WATSON, l'évaluation de cette réduction est généralement exprimée en log décimal (log N/N_0). Un log correspond à une réduction de 90 % de la concentration initiale, 2 log à une réduction de 99 %, 3 log de 99,9 % et 4 log de 99,99 %.

Concept de Ct

La loi cinétique d'inactivation des germes dérivée de la loi de CHICK-WATSON exprimée ci-dessus (log N/N_0 = k.C.t) met en évidence l'importance du produit C. t, l'inactivation des germes étant directement proportionnelle à ce produit.

L'inactivation des germes nécessite donc la mise en œuvre d'une dose suffisante de désinfectant pendant une durée définie, ces 2 facteurs dépendant de chaque germe et des caractéristiques physicochimiques de l'eau (température, pH). Ces deux paramètres (dose de désinfectant et temps de contact) constituent la base du concept Ct sur lequel repose l'évaluation de l'efficacité de la désinfection et qui sert également au dimensionnement des ouvrages. Le critère Ct correspond au produit de la concentration résiduelle en désinfectant (en mg/L) par le temps de contact t (en minutes).

Dans la pratique, la concentration en désinfectant diminue au cours du temps (voir ci-dessous le § sur la demande en désinfectant), et le Ct correspond en réalité à l'aire sous la courbe, tel qu'illustré par la zone hachurée sur la figure ci-dessous, pour un temps de contact t, une concentration initiale en désinfectant C_0.



Évolution de la concentration en désinfectant au cours du temps – Notion de Ct

Mais il est généralement difficile de connaître le profil complet de cette courbe de teneur résiduelle en désinfectant au cours du temps. Le calcul du Ct s'effectue alors soit en utilisant la teneur résiduelle au temps t (cela représente une valeur par défaut du Ct, encore appelée $Ct_{minimum}$), soit encore sur une moyenne arithmétique en considérant une variation linéaire de C (c'est le $Ct_{linéaire}$, qui correspond encore à la concentration moyenne dans l'ouvrage de désinfection), ou sur une moyenne géométrique ($Ct_{géométrique}$), ou encore sur un calcul d'intégration exponentielle (c'est le $Ct_{réel}$).

■ Demande en oxydant

Dans le cas de la désinfection chimique, la mise en œuvre du traitement est assurée en choisissant la dose de traitement à utiliser, ce qui se réalise dans la pratique par la détermination de la demande en oxydant.

La consommation en oxydant lors de l'étape de désinfection, appelée demande en oxydant correspond à la dose nécessaire pour obtenir la teneur résiduelle préconisée après le temps de contact requis. Cette demande en oxydant dépend de plusieurs paramètres qui représentent des facteurs clés pour le choix de la nature et de la concentration du désinfectant susceptible d'assurer une bonne désinfection :

– la température de l'eau, qui influence les cinétiques des réactions chimiques mises en œuvre et peut affecter la stabilité du réactif,

– le pH de l'eau, qui joue un rôle sur la forme chimique de l'oxydant (forme ionique ou moléculaire) ou sur sa stabilité,

– le temps de contact, la demande en oxydant augmentant avec le temps de réaction,

– la concentration en oxydant, la demande en oxydant augmentant sensiblement avec la concentration utilisée, sans toutefois lui être proportionnelle,

– les caractéristiques chimiques de l'eau (composition minérale et organique).

Sous-produits de désinfection

Le pouvoir oxydant des réactifs désinfectants ne se limite pas à l'inactivation des germes, il conduit souvent en parallèle à diverses réactions sur la matrice minérale et organique de l'eau à désinfecter. Ces réactions provoquent une consommation parasite du réactif désinfectant et à la formation de sous-produits de désinfection gênants, comme l'illustre le tableau ci-dessous. Les risques sanitaires associés à certains de ces sous-produits ont conduit à la mise en place de textes réglementaires, en particulier pour la désinfection des eaux potables. C'est le cas des composés organohalogénés volatils (trihalométhanes ou THM) dans le cas de la désinfection par le chlore, la monochloramine ou le dioxyde de chlore, des ions chlorite avec le dioxyde de chlore et des ions bromate pour une désinfection par l'ozone. Le respect de ces textes pourra conduire dans certaines eaux à la réduction des doses et des temps de contacts utilisables et influencer les critères de choix du désinfectant.

Désinfectant utilisé	Principaux sous-produits possibles	
Chlore (Cl_2, HOCl, ClO^-)	Composés organohalogénés totaux (TOX ou AOX)	
	Composés organohalogénés volatils : trihalométhanes (THM) (*)	
Monochloramine NH_2Cl	Composés organohalogénés (TOX ou THM(*))	*En faible quantité comparativement au chlore*
Dioxyde de chlore ClO_2	Chlorites ClO_2^- (**)	*60 à 70 % du dioxyde de chlore consommé se retrouve sous forme d'ions chlorite*
	Chlorates ClO_3^-	*Formés en quantités beaucoup plus faibles que les ions chlorite*
	Composés organohalogénés (TOX ou THM (*))	*En faible quantité comparativement au chlore Principaux composés formés = acides dichloroacétique et trichloroacétique*
Ozone O_3	Bromates BrO_3^-(*)	*Issus de la réaction de l'ozone sur les ions bromures puis sur les ions hypobromite formés*
	Aldéhydes (formaldéhyde, acétaldéhyde, glyoxal…), acides, cétones	

(*) limite de qualité pour l'eau potable.
(**) référence de qualité pour l'eau potable.

13.1.3 Choix et conditions d'application des désinfectants

Le choix des produits et procédés de désinfection est également fonction des réglementations nationales en vigueur, et bien sûr des usages de l'eau (eaux potables, eaux de piscines ou circuits de refroidissement).

Pour les eaux de consommation, l'étape de désinfection finale s'opère le plus souvent avec le chlore, l'ozone ou le dioxyde chlore ou encore la monochloramine (dans les pays où elle est autorisée). Pour le chlore, le maintien d'une teneur résiduelle de 0,5 mg/L en chlore libre pendant un temps de contact de 30 minutes (Ct = 15 mg. min. L^{-1}) est recommandé. Le respect de la réglementation sur les sous-produits de chloration doit être assuré en parallèle. La réglementation sur les eaux potables préconise une absence d'odeur ou de saveur désagréables associées à la présence de chlore libre et total et fixe une valeur de 100 μg/L en trihalométhanes totaux (THM totaux) comme limite de qualité, précisant que la valeur la plus faible possible doit être visée sans pour autant compromettre la désinfection.

Avec le dioxyde de chlore, un Ct de 3 (teneur résiduelle de 0,2 mg/L pendant 15 minutes) assure une protection efficace, la teneur en ion chlorite (ClO_2^-) libéré par les réactions d'oxydation doit cependant être prise en compte, la réglementation fixant comme référence de qualité une valeur maximale de 0,2 mg/L. Pour l'ozone, il est recommandé de maintenir un taux de 0,4 mg/L pendant 4 minutes (Ct = 1,6), en prenant toutes les mesures pour réduire la formation d'ions bromates ($Br0_3^-$), la limite de qualité étant de 10 μg/L.

L'inactivation par rayonnements UV peut également être mise en œuvre. Efficace pour tous les microorganismes, elle ne génère pas de sous-produits gênants, mais présente cependant l'inconvénient d'un suivi plus délicat (contrôle du rayonnement émis, vieillissement ou défaillance des lampes).

Dans les eaux de piscines, la gamme de produits désinfectants autorisés est plus large, incluant le chlore, l'ozone, le brome, les chloramines, le dioxyde de chlore, l'iode, les dérivés d'ammonium quaternaires, l'acide isocyanurique ou trichloroisocyanurique ou les isocyanurates… À l'issue du traitement, l'eau doit être désinfectée (respect des teneurs et des temps de contact pour les germes ciblés par la réglementation) et désinfectante (présence d'une teneur résiduelle assurant la protection sanitaire des utilisateurs dans les bassins). L'utilisation du chlore est de loin la plus répandue, mais elle peut conduire à la formation de concentrations excessives d'un sous-produit gênant, la trichloramine (ou trichlorure d'azote). Le trichlorure d'azote se forme dans l'eau par réaction entre le chlore et les composés azotés (ions ammonium, ou pollution organo-azotée apportée par les baigneurs) ; son caractère volatil assure son transfert rapide dans l'atmosphère des piscines, où il provoque des irritations (voies respiratoires ou oculaires) chez les baigneurs et le personnel des établissements.

Le spectre des produits et procédés employés est très large pour les circuits de refroidissement industriels et les tours aéroréfrigérantes, avec environ 80 composés biocides utilisables pour le traitement des circuits et la maîtrise du risque légionelle. Il s'agit d'une part de composés biocides oxydants (chlore, monochloramine, brome, dioxyde de chlore, acide peracétique, peroxyde d'hydrogène éventuellement couplé à des sels d'argent…) et

des composés biocides non oxydants (sels d'ammoniums quaternaires tels que le chlorure de benzalkonium, des aldéhydes tels que le glutaraldéhyde, des dérivés thiazolés, comme les isothiazolone, ou encore des dérivés bromés non oxydants, avec par exemple le DiBromoNitriloPropioAmide ou DBNPA). Les eaux véhiculées dans ces circuits étant le plus souvent des eaux de surface brutes, les concentrations en réactifs utilisés seront plus élevées que dans le cas des eaux potables, avec des impacts environnementaux à maîtriser (en particulier la teneur en composés organohalogénés de type AOX ou TOX dans les rejets).

13.2 Chlore et chloramines

13.2.1 Chimie du chlore et des chloramines

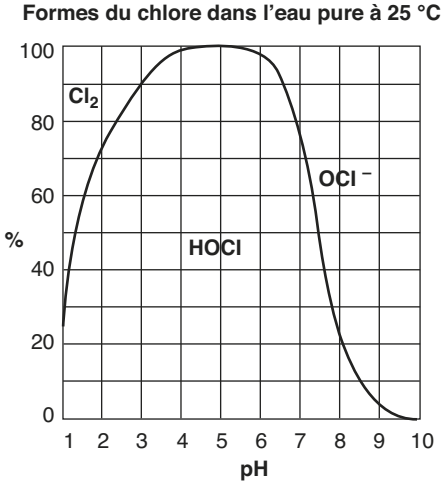
La dissolution dans l'eau du chlore gazeux conduit à sa dismutation en acide hypochloreux (HOCl), ion chlorure (Cl^-) et proton (H^+), selon l'équilibre :

$$Cl_2 + H_2O \leftrightarrows HOCl + H^+ + Cl^- \qquad K = 4{,}0\ 10^{-4}\ mol^2\ L^{-2} \text{ à } 25\ °C$$

L'acide hypochloreux est un acide faible qui se dissocie dans l'eau suivant l'équilibre :

$$HClO \leftrightarrows ClO^- + H^+ \qquad Ka = 3{,}2\ 10^{-8}\ mol\ L^{-1} \text{ à } 25\ °C, \textit{ soit } pKa = 7{,}5$$

La somme de ces 2 formes (HClO et ClO^-) constitue ce que l'on appelle le chlore libre et l'équilibre montre que leur domaine d'existence dépend du pH, comme l'illustre la figure ci-dessous et quelques valeurs repères sur le tableau contigu. À pH inférieur à 4, la forme gazeuse est la seule présente, alors qu'à pH compris entre 4 et 6, le chlore est presque entièrement sous forme d'acide hypochloreux. Pour des pH compris entre 6 et 9, le pourcentage d'acide hypochloreux diminue rapidement au profit de l'ion hypochlorite, qui demeure la seule entité présente au-delà de pH 10.



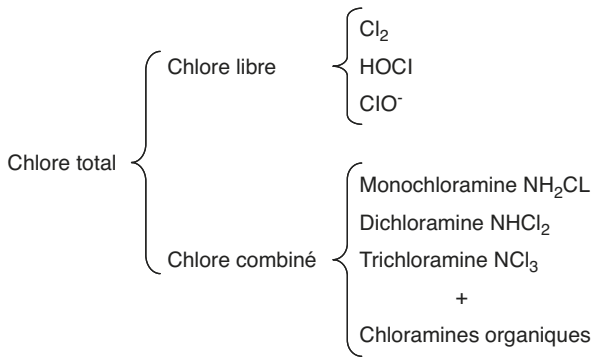
pH	% HClO	% ClO^-
5	99,8	0,2
6	97,8	2,2
7	81,3	18,7
7,5	50	50
8	30,3	69,7
9	4,2	95,8
10	0,4	99,6

Répartition des formes du chlore à 25 °C dans l'eau pure

Le chlore réagit sur de nombreux composés minéraux (fer, manganèse, azote ammoniacal, nitrites, bromures, iodures, sulfures et cyanures), ainsi que sur la matière organique des eaux (substances humiques en particulier).

Réactions chlore/ammoniaque

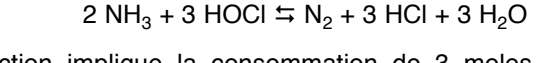
L'action du chlore sur l'azote ammoniacal présente un intérêt particulier. Elle procède suivant un mécanisme complexe qui conduit en premier lieu à la formation de monochloramine (NH_2Cl), puis de la di-et tri-chloramine ($NHCl_2$ et NCl_3) :



L'ensemble de ces chloramines minérales (ainsi que les chloramines organiques éventuellement formées par action du chlore sur des composés organo-azotés) constitue ce que l'on appelle le chlore combiné, par opposition au chlore libre. La présence et la concentration de ces différentes formes dépend du pH, de la température, du rapport chlore/ammoniaque et du temps de réaction.

- Chlore total
  - Chlore libre
    - Cl_2
    - HOCl
    - ClO^-
  - Chlore combiné
    - Monochloramine NH_2CL
    - Dichloramine $NHCl_2$
    - Trichloramine NCl_3
    - +
    - Chloramines organiques

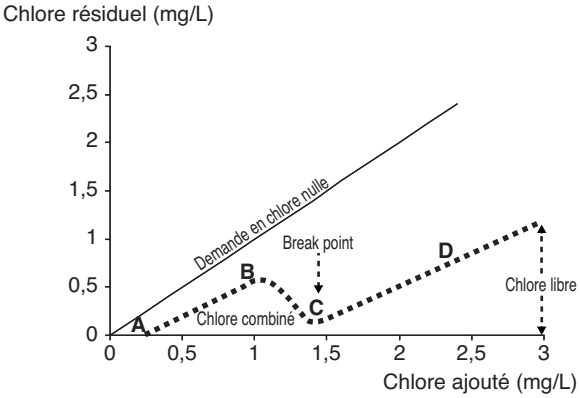
Pour des taux de chloration plus élevés, des réactions complémentaires complexes aboutissent à la destruction des chloramines, la réaction globale étant la suivante :



Cette réaction implique la consommation de 3 moles de chlore pour 2 moles d'azote ammoniacal, soit un rapport molaire de Cl_2/NH_3 égal à 1,5 et un rapport massique de 7,6 mg de chlore par mg d'azote.

La dose de chlore correspondant à cette stoechiométrie est appelée « break point » ou point de rupture. La courbe ci-dessous représente une courbe typique de break-point, telle qu'on peut l'obtenir sur une eau naturelle. Le tracé de cette courbe s'obtient en ajoutant des doses croissantes de chlore dans une série de flacons contenant un même volume d'eau. Après un temps de contact donné (1 ou 2 heures en général) on procède au dosage du chlore total (chlore libre + chlore combiné).

La présence dans les eaux de composés minéraux réducteurs et de matière organique consommatrice de chlore augmente la consommation en chlore et décale le break-point au-delà de la stoechiométrie des réactions Cl_2/NH_3 (rapport massique > 7,6) (voir figure ci-dessous). Cette consommation se traduit également par une consommation instantanée du chlore ajouté (zone A). Dans la zone C, la teneur en chlore total n'est pas nulle, car toutes les chloramines ne sont pas totalement détruites ; la trichloramine est encore présente et des traces de cette espèce persistent encore dans la zone D. Dans cette zone D, le chlore présent est majoritairement du chlore libre, mais on constate généralement que la pente de cette courbe est légèrement inférieure à 1, car la consommation en chlore de nombreux composés organiques présents augmente avec le taux de chloration.



zone A : consommation rapide en chlore par les composés très réactifs
zone B : Formation puis destruction des chloramines minérales
zone C : Break-point
zone D : Chlore libre + *traces de chlore combiné (trichloramine)*

Courbe de « break point » d'une eau naturelle

Il est extrêmement important de connaître la teneur en chlore libre d'une eau chlorée, car il représente la forme la plus efficace pour la désinfection, sachant par ailleurs qu'il est important de contrôler le pH des eaux traitées, car l'acide hypochloreux est un bactéricide beaucoup plus puissant que l'ion hypochlorite. Ainsi, pour obtenir 99 % d'inactivation (2 log) de la bactérie *Escherichia coli* en 10 minutes, il faut employer une concentration de 0,01 mg/L pour le chlore, de 2 mg/L pour l'ion hypochlorite et de 8,5 mg/L pour la monochloramine.

Ce pouvoir désinfectant, spécifique pour chaque forme du chlore est précisé sur le tableau ci-dessous. Il faut noter qu'il varie également en fonction des espèces de microorganismes concernés (bactéries, virus, protozoaires,…). Mais dans tous les cas, c'est donc de loin la forme moléculaire du chlore libre (HOCl) qui est la plus désinfectante et les formes du chlore libre sont plus efficaces que celles du chlore combiné. Pour cette raison, l'acide hypochloreux HOCl est parfois appelé « chlore libre actif » ou chlore actif, alors que l'ion hypochlorite ClO^- est défini comme du « chlore libre potentiel ».

Enfin, des chloramines organiques peuvent encore se former par action du chlore sur la matière organique des eaux naturelles. Il est d'usage de les englober parmi les chloramines, car les techniques habituelles de dosage sont susceptibles de les englober, en tout ou en partie.

Formes du chlore et pouvoir désinfectant

Formes du chlore				Pouvoir désinfectant
Chlore total	Chlore libre	Acide hypochloreux HOCl		élevé (forme du chlore la plus active)
		Hypochlorite ClO^-		$ClO^- < HOCl$
	Chlore combiné	Chloramines minérales	Monochloramine NH_2Cl	$NH_2Cl < ClO^- < HOCl$
			Dichloramine $NHCl_2$	$NHCl_2 < NH_2Cl < ClO^- < HOCl$
			Trichloramine NCl_3	peu évalué, sans doute très faible
		Chloramines organiques		sans doute très faible, voire même nul

Réactions avec les ions bromures

La majorité des eaux de surface contient des ions bromure, à des concentrations souvent faibles (< 100 μg/L). Le chlore oxyde facilement ces ions bromure en brome, qui possède des propriétés très voisines de celle du chlore. Il se dismute en acide hypobromeux (HOBr), qui se dissocie lui-même en ion hypobromite (BrO^-) :

$$Br_2 + H_2O \leftrightarrows HOBr + H^+ + Br^- \qquad K = 5{,}9\ 10^{-9}\ mol^2\ L^{-2} \text{ à } 25\ °C$$

$$HBrO \leftrightarrows BrO^- + H^+ \quad Ka = 2{,}1\ 10^{-9}\ mol\ L^{-1} \text{ à } 25\ °C, \textit{ soit } pKa = 8{,}7$$

Ces nouvelles entités oxydantes (Br_2, HOBr, BrO^-) pourront, à leur tour, conduire à des dérivés bromés, bromamines (minérales ou organiques) ou autres composés organobromés.

Formation de composés organohalogénés

Le chlore réagit avec la matière organique présente dans les eaux naturelles, qui se compose pour une large part de structures macromoléculaires complexes (substances humiques). Les divers mécanismes impliqués (addition, substitution, oxydation) conduisent à la formation de composés organochlorés, ou organobromés en présence simultanée d'ions bromure, et le plus souvent mixtes (chlorés et bromés), nommés organohalogénés. Ces réactions procèdent selon des vitesses réactionnelles variées, mais la formation des composés organohalogénés peut se poursuivre pendant plusieurs heures, voire plusieurs dizaines d'heure. La concentration de ces composés varie en fonction des conditions de chloration (pH, température, dose de chlore introduite, temps de contact).

Parmi les sous-produits de chloration formés il faut noter principalement les trihalométhanes (THM) qui regroupent le chloroforme ($CHCl_3$), le dichlorobromométhane ($CHCl_2Br$), le chlorodibromométhane ($CHClBr_2$) et le bromoforme ($CHBr_3$). La somme de ces 4 composés à caractère volatil

représente les THM totaux ou TTHM et constitue une limite de qualité pour l'eau potable (TTHM < 100 μg/L).

Les autres composés organohalogénés formés sont loin d'être tous identifiés, mais la fraction adsorbable sur du charbon actif fait l'objet d'une détermination. Il s'agit des produits regroupés sous le terme AOX (composés organohalogénés adsorbables), souvent confondu avec le terme TOX (composés organohalogénés totaux), même si tous les organohalogénés ne sont pas pris en compte, car non adsorbables sur le charbon ou réduits sur le charbon (acides chloroacétiques, chloroacétonitriles, chloraldéhydes, chlorocétones).

13.2.2 Analyse des solutions concentrées (eaux et extraits de Javel) par titrage iodométrique

La concentration des solutions concentrées (extraits de Javel ou eaux de Javel) peut s'exprimer classiquement en grammes de chlore par litre d'eau (g/L), mais dans les solutions techniques commerciales, il est d'usage d'employer le degré chlorométrique. Ce dernier représente la concentration d'une solution qui dégage un litre de chlore gazeux dans les conditions normales de température et de pression (0 °C et 760 mm de Hg). Il s'ensuit que :

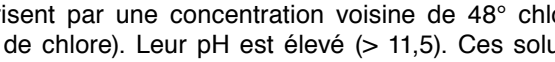
$$1 \text{ degré chlorométrique} = \frac{71 \text{ g}}{22{,}4 \text{ L}} = 3{,}17 \text{ g/L (grammes de chlore par litre d'eau)}$$

Les solutions commerciales d'eau de Javel (hypochlorite de sodium) se caractérisent par une concentration voisine de 48° chlorométrique (soit 152 g/L de chlore). Leur pH est élevé (> 11,5). Ces solutions sont relativement instables (influence de la lumière et de la température sur leur décomposition) et doivent être dosées régulièrement.

La méthode de titrage iodométrique est particulièrement adaptée à ces solutions concentrées.

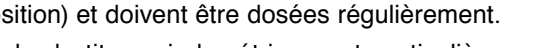
■ Principe

Le chlore total (libre + combiné) oxyde les ions iodure en iode :



$$Cl_2 + 2\ I^- \leftrightarrows I_2 + 2\ Cl^-$$

L'iode libéré est dosé à l'aide d'une solution titrée de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) ou d'arsénite de sodium ($NaAsO_2$) :



$$I_2 + 2\ S_2O_3^{2-} \leftrightarrows 2\ I^- + S_4O_6^{2-}$$

$$I_2 + AsO_2^- + 2\ H_2O \leftrightarrows 2\ I^- + AsO_4^{3-} + 4\ H^+$$

□ **Réactifs**

– Acide acétique concentré (cristallisable)

– Iodure de potassium (KI) en cristaux, exempt d'iodate,

– Thiosulfate de sodium 0,1 N (= 0,1 M) ou arsénite de sodium 0,1 N (= 0,1 M)

Utiliser des solutions titrées prêtes à l'emploi ou préparer en dissolvant les sels correspondants.

– Indicateur d'iode au choix : thiodène en poudre, empois d'amidon (solution à 10 g/L)…

Mode opératoire

Choisir un volume d'échantillon tel que le volume de titrant utilisé (thiosulfate ou arsénite) soit suffisant pour obtenir une bonne précision du dosage (soit environ 10 à 20 mL avec une burette classique, ou moins avec une microburette de 5 mL). Avec les solutions les plus concentrées, on pourra soit utiliser un volume d'échantillon très faible (en utilisant une micropipette), soit faire une dilution préalable.

Dans un erlenmeyer de 250 mL, introduire environ 100 mL d'eau déionisée. Mettre sous agitation puis ajouter :

– 5 mL d'acide acétique (le pH de la solution à doser doit se situer entre 3 et 4),

– environ 1 g d'iodure de potassium,

– un volume V (mL) d'échantillon.

Titrer immédiatement par le thiosulfate de sodium (ou l'arsénite de sodium) 0,1 N. Quand la coloration jaune de l'iode commence à s'estomper, ajouter l'indicateur d'iode (quelques grains de thiodène par exemple ou encore quelques gouttes de solution d'amidon), puis poursuivre jusqu'à décoloration. Soit A le volume (en mL) de titrant de normalité N utilisé.

Expression des résultats

La teneur en chlore total de la solution, exprimée en g/L de chlore est donnée par l'expression :

$$[Cl_2]_{g/L} = \frac{A \times N}{V} \times 35{,}45$$

Soit en mg/L :

$$[Cl_2]_{mg/L} = \frac{A \times N}{V} \times 35\,450$$

$$= 3\,545\,\frac{A}{V} \text{ pour une solution titrante 0,1 N}$$

Avec :

À = volume (en mL) de la solution titrante (thiosulfate ou arsénite).

N = normalité de la solution titrante (thiosulfate ou arsénite).

V = volume (en mL) d'échantillon introduit pour le dosage.

Le choix du volume d'échantillon A peut se faire aisément sur la base de ces formules. Ainsi, si l'on dispose d'une burette de précision de 25 mL, et si l'on se base sur un volume de titrant V d'environ 10 mL, le calcul indique que les volumes d'échantillon à utiliser seraient :

– entre 0,2 mL et 1 mL respectivement pour des solutions de chlore à 48° chlorométrique (152 g/L) et 12° chlorométrique (38 g/L),

– d'environ 35 mL pour une solution à 1 g/L de chlore,

– et d'environ 350 mL pour une solution à 0,1 g/L.

Remarque

La méthode par titrage iodométrique permet de doser globalement le chlore total (chlore libre + chlore combiné), car l'oxydation des ions iodure n'est pas due spécifiquement au chlore, elle est également réalisée par les chloramines. Mais elle peut également être le fait d'autres oxydants brome, bromamines, ozone, peroxyde d'hydrogène, dioxyde de chlore…). Ce dosage n'est donc applicable qu'en absence d'autres oxydants.

13.2.3 Dosage du chlore résiduel total

■ Méthode iodométrique

Le dosage du chlore résiduel total (chlore libre + chlore combiné) peut dans certains cas se réaliser par la méthode iodométrique décrite ci-dessus pour les solutions de chlore concentrées (§ A-13.2.2) avec quelques adaptations :

– la solution titrante (thiosulfate ou arsénite) est diluée 10 fois pour obtenir une normalité de 0,01 N,

– le volume d'échantillon est porté à 500 mL,

– l'usage d'une microburette de 5 mL est alors recommandé.

Dans ces conditions, il est envisageable de doser le chlore résiduel total, avec une limite de détection voisine de 0,2 à 0,3 mg/L, mais avec une faible précision pour les teneurs inférieures au mg/L, ce qui n'est généralement pas suffisamment sensible pour les eaux de consommation. On lui préférera l'une des méthodes décrites ci-après.

■ Méthode à l'orthotolidine

□ **Principe**

En milieu acide (pH < 2) l'orthotolidine est oxydée par les halogénes et les halogénoamines en une holoquinone de couleur jaune, qui présente une bande d'absorption à 440 nm.

□ **Réactifs**

– Solution acide d'orthotolidine à 0,1 %.

Dissoudre 135 mg de chlorhydrate d'orthotolidine dans 50 mL d'eau déionisée. Ajouter en agitant constamment 50 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 30 %.

Conserver en flacon brun à l'abri de la lumière en évitant les écarts de température. Ne pas utiliser au-delà de six mois et en tout état de cause s'il y a un début de précipitation.

– Solution tampon mère d'hydrogénophosphate de sodium et de dihydrogénophosphate de potassium (0,5 M) :

hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4 , 2 H_2O)		28,66 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		46,14 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution tampon fille de phosphates à 0,1 *M* :

solution tampon mère		200 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Cette solution correspond à un *p*H de 6,45.

– Solution de chromate-dichromate :

dichromate de potassium anhydre ($K_2Cr_2O_7$)		0,155 g
chromate de potassium anhydre (K_2CrO_4)		0,465 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

La coloration de cette solution correspond à une teneur en chlore de 1 mg/L.

☐ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Diluer la solution de chromate/dichromate avec la solution tampon 0,1 M pour obtenir une gamme d'au minimum 5 à 6 points dans la gamme équivalant à des concentrations en chlore de 0 à 1 mg/L.

Procéder par exemple comme suit :

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, introduire les réactifs suivants :

Solution de chromate-dichromate (mL)	0	1	5	10	25	50	75	100
Solution tampon 0,1 *M* (mL)	*q.s.p.* 100 mL							
Correspondance en mg/L de chlore	0	0,01	0,05	0,1	0,25	0,50	0,75	1

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur de 440 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

☐ **Mode opératoire**

Introduire 0,5 mL de solution d'orthotolidine à 0,1 % dans un tube à essais. Ajouter 10 mL d'eau à analyser. Agiter. Attendre 3 minutes et effectuer, immédiatement après, la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 440 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

☐ **Expression des résultats**

La courbe donne directement la teneur de l'eau en chlore résiduel total exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– Malgré sa facilité d'emploi, cette méthode est de moins en moins utilisée en raison de la toxicité de l'orthotolidine (absorption par la peau – iritation des voies respiratoires).

– Le dosage doit se faire à la température de 20 °C. Chauffer ou refroidir le tube après agitation afin d'obtenir le maximum de coloration.

– La coloration demande pour s'effectuer dans de bonnes conditions que le *p*H soit inférieur ou égal à 1,3 avec un rapport chlore/orthotolidine voisin de 1/3 ; que la concentration en chlore ne dépasse pas 10 mg/L.

– Les gammes étalons préparées à partir de solutions de chlore et d'orthotolidine sont difficiles à obtenir ; c'est la raison pour laquelle les gammes au chromate-dichromate sont utilisées.

– Pour les comparaisons visuelles, préparer une gamme permanente en prélevant dans des tubes de 10 mL environ 5 mL des solutions étalons correspondantes. Boucher hermétiquement au collodion ou à la paraffine.

– Pour les mesures sur le terrain il existe dans le commerce des échelles spectrométriques avec des verres teintés.

– Le fer, le manganèse et les nitrites sont susceptibles de donner des interférences.

– Les autres oxydants sont également dosés par cette méthode.

Méthode de référence

NF EN ISO 7393 (mars 2000). Qualité de l'eau – Dosage du chlore libre et du chlore total – Partie 3 : méthode par titrage iodométrique pour le dosage du chlore total (indice de classement T90-037-3).

13.2.4 Dosage du chlore résiduel total, libre ou combiné

Il existe de nombreuses méthodes de dosage avec des différences dans la spécificité, la sensibilité et la reproductibilité. D'une façon générale, les méthodes spectrométriques sont très largement influencées par les interférences liées à la nature de l'eau (turbidité, couleur, *p*H, oxygène dissous, etc.).

La méthode iodométrique est la méthode de base pour la détermination du chlore total et des solutions étalons de chlore, en particulier des solutions concentrées ; elle est peu précise pour des teneurs inférieures à 1 mg/L.

La méthode à l'orthotolidine est simple et précise mais présente l'inconvénient d'être sensible aux interférences indiquées ci-dessus et à la présence de nitrites, fer, manganèse, matières organiques. Elle s'applique au dosage de l'halogène total mais elle ne permet pas de différencier le chlore libre et les chloramines. Une adaptation de la méthode, utilisant les propriétés réductrices de l'arsénite de sodium, permet de différencier et d'évaluer le chlore libre et le chlore des chloramines mais les interférences subsistent et en limitent l'utilisation. L'utilisation de la méthode à la diéthyl-p-phénylènediamine (DPD) s'est considérablement développée en raison de sa rapidité de mise en œuvre, de sa reproductibilité et de sa sensibilité. Elle permet le dosage du chlore libre et des différentes chloramines. Elle peut être développée soit par spectrométrie, soit par titrimétrie. L'emploi de pastilles de réactif à la DPD stabilisé facilite sa mise en œuvre sur le terrain.

La méthode à la syringaldazine autorise la différenciation du chlore libre, elle se prête à une automatisation pour le contrôle en continu de la chloration. Elle est peu affectée par la présence de nitrates, de nitrites et de formes oxydées du manganèse ; toutefois la trichloramine interférerait sur la mesure du chlore libre. En fait, la méthode à la syringaldazine est complémentaire des méthodes à l'orthotolidine et à la DPD.

La méthode ampérométrique donne une bonne différenciation du chlore libre et du chlore combiné. La détermination du chlore libre est cependant perturbée par la présence de trichlorure d'azote, de dioxyde de chlore, d'ozone et d'ions gênants tels que l'argent et le cuivre.

D'une façon générale, étant donné l'instabilité du chlore dans l'eau, il est nécessaire de pratiquer les mesures sans délais après le prélèvement en évitant l'agitation, la lumière et l'élévation de température.

Quelle que soit la méthode utilisée, il est impératif, pour éviter de nombreuses erreurs de mesure, d'attacher un soin particulier à la propreté rigoureuse de la verrerie et de disposer d'eau sans demande en chlore.

On peut préparer de l'eau *sans demande en chlore* à partir d'une eau déionisée ou permutée de bonne qualité par addition de suffisamment de chlore pour obtenir 5 mg/L de chlore libre. Après une attente de deux jours, le chlore libre résiduel est éliminé en exposant le récipient à la lumière solaire ou à une lampe à UV. Au bout de quelques heures, contrôler l'absence de chlore résiduel par iodométrie. Ne pas utiliser l'eau avant que les faibles traces de chlore libre et combiné n'aient été éliminées. Conserver l'eau dans un récipient *ad hoc* en évitant les contaminations.

■ Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) (dosage du chlore total, du chlore libre et des chloramines)

La N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (ou DPD) s'oxyde en un radical semi-quinonique de couleur rose, qui permet un dosage colorimétrique à 510 nm, mais qui peut également être dosé par volumétrie en utilisant un réducteur, le sulfate de fer et d'ammonium.

L'oxydation de la DPD est rapide avec de nombreux oxydants, dont le chlore qui réagit instantanément avec la DPD. Le dosage des chloramines nécessite quant à lui l'addition d'ions iodure. En présence d'ions iodure, les chloramines libèrent de l'iode qui oxydent la DPD, ce qui autorise leur dosage dans des conditions bien définies. L'ajout d'une petite quantité d'ions iodure permet de quantifier la monochloramine, alors que les di- et tri-chloramines nécessitent l'ajout d'ions iodure en excès.

La mise en œuvre des dosages avec la DPD nécessite de bien contrôler les conditions de pH préconisées ($6,2 < pH < 6,5$). Un pH trop faible pourrait permettre la réaction de la monochloramine en même temps que le chlore libre (sans ajout d'iodures), et l'oxygène dissous donne une coloration à pH trop élevé.

Ces dosages (spectrométrique et titrimétrique) permettent d'accéder au chlore total et au chlore libre. La différence entre ces 2 concentrations donne la teneur en chloramines (chlore combiné). La différenciation des chloramines (mono, di et tri-chloramine) est également possible, même si les di-et tri-chloramines sont parfois difficiles à différencier.

Ces 2 méthodes sont applicables dans la gamme de mesure de 0 à 5 mg/L. Une dilution préalable permet le dosage de solutions plus concentrées.

Matériel spécial

Une verrerie non consommatrice de chlore est indispensable pour la réalisation de ces dosages. Pour ce faire, toute la verrerie utilisée est mise à tremper pendant au moins 2 heures dans une solution d'hypochlorite de sodium à environ 100 mg/L. Cette verrerie est abondamment rincée avant usage avec de l'eau déionisée. Pour éviter des éventuelles interférences liées à la présence résiduelle d'ions iodure lors du dosage du chlore libre,

il est conseillé d'utiliser une verrerie différente pour le dosage du chlore libre et du chlore total.

■ Méthode titrimétrique à la DPD

Principe

En présence d'oxydants, et à pH compris entre 6,2 et 6,5, la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) s'oxyde en un radical semi-quinonique, qui peut également être dosé par volumétrie en utilisant un réducteur, le sulfate de fer et d'ammonium (FAS). L'oxydation de la DPD est rapide le chlore qui réagit instantanément avec la DPD. Le dosage des chloramines nécessite quant à lui l'addition d'ions iodure dans des conditions bien définies (voir préambule du § A-13.2.4).

Domaine d'application

L'utilisation d'une microburette de 5 mL permet de doser des concentrations en chlore de 0 à 5 mg/L de chlore, avec une limite de détection d'environ 0,02 mg/L dans les conditions idéales. Pour des concentrations en chlore supérieures à 5 mg/L, il est possible de diluer la solution, ou d'utiliser une burette de plus grande capacité.

☐ Matériel

– verrerie sans demande en chlore (voir préambule ci-dessus)

– utiliser de préférence une verrerie séparée pour le dosage du chlore libre et du chlore total, afin d'éliminer toute interférence liée à une contamination de la verrerie par des traces résiduelles d'ions iodure.

– microburette de 5 mL, avec graduations de 0,02 mL.

☐ Réactifs

– Eau déionisée sans demande en chlore (voir préambule A.13.2.4)

– Solution de sulfate de N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) à 1,1 g/L :

Acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) dihydraté, sel disodique		200 mg
Acide sulfurique concentré (d = 1,84)		2 mL
Sulfate de DPD anhydride		1,1 g (*)
Eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre 200 mg de sel disodique de l'EDTA dihydraté dans environ 250 mL d'eau déionisée. Ajouter 2 mL d'acide sulfurique concentré. Dissoudre le sel de DPD dans ce mélange et compléter à 1 000 mL.

– Solution tampon pH 6,5

Hydrogénophophate de sodium (Na_2HPO_4) anhydre		24 g (**)
Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		46 g
Acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) dihydraté, sel disodique		100 mg
Chlorure mercurique ($HgCl_2$)		20 mg (***)
Eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

(*) On peut utiliser également 1 g d'oxalate de DPD ou 1,5 g de sulfate de DPD pentahydraté.
(**) ou 60,5 g de la forme dodécahydratée ($Na_2H_2PO_4$, 12 H_2O).
(***) agent conservateur, pour éviter toute moisissure.

Dans de l'eau déionisée, dissoudre dans l'ordre 24 g d'hydrogénophosphate de sodium, 46 g de dihydrogénophosphate de potassium, 100 mg du sel disodique de l'EDTA et 20 mg de chlorure mercurique. Compléter à 1000 mL.

– Iodure de potassium (KI) exempt d'iodate.

– Solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium (FAS) à 2,8 mmol/L (0,0028 N)

Sulfate de fer (II) et d'ammonium [$(NH_4)_2SO_4$, $FeSO_4$, 6 H_2O]		1,106 g
Acide sulfurique concentré (d = 1,84)		1 mL
Eau déionisée bouillie et refroidie	*q.s.p.*	1000 mL

1 mL de cette solution correspond à 0,1 mg de chlore.

Cette solution se conserve environ 1 mois dans un flacon inactinique.

Le titre de cette solution peut être vérifié par une solution de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à 2,37 mmol/L (0,0142 N) :

– prendre 50 mL de la solution de FAS,

– ajouter 5 mL d'acide phosphorique (d = 1,71) et 4 gouttes d'une solution à 0,3 % d'indicateur diphénylamine sulfonate de baryum.

– titrer avec la solution de dichromate de potassium à 2,37 mmol/L jusqu'à apparition d'une coloration violette.

Si la solution de FAS est bien à 2,8 mmol/L, ce virage doit être atteint avec 10 mL de dichromate de potassium à 2,37 mmol/L.

Mode opératoire

Dosage du chlore libre

Dans une fiole conique de 250 mL, verser 5 mL de solution tampon et 5 mL de solution de DPD. Ajouter 100 mL d'eau à analyser. Mélanger. Titrer rapidement avec la solution de sulfate ferreux ammoniacal, jusqu'à décoloration. Soit n_1 le nombre de millilitres utilisés.

Dosage de la monochloramine

Dans la même fiole, ajouter environ 0,5 mg d'iodure de potassium. Pour plus de précision, l'iodure de potassium peut être ajouté sous forme d'une solution aqueuse à 0,5 % (0,1 mL). Continuer le titrage avec la solution de sulfate ferreux ammoniacal jusqu'à décoloration. Soit n_2 le nombre de millilitres utilisés.

Dosage du chlore total

Toujours dans la même fiole, ajouter environ 1 g d'iodure de potassium et agiter rapidement pour dissoudre. Attendre 2 minutes et continuer le titrage par le sulfate ferreux ammoniacal jusqu'à décoloration. Soit n_3 le nombre de millilitres utilisés. En présence de quantités importantes de dichloramines, il peut se produire à la fin du titrage un retour de coloration. Dans ce cas attendre encore 2 minutes.

Dosage séparé des di- et trichloramines

Introduire dans une fiole conique A environ 0,5 mg d'iodure de potassium. Ajouter 100 mL d'eau à analyser, mélanger. Dans une deuxième fiole B, introduire 5 mL de solution tampon et 5 mL de solution de DPD. Verser le contenu de la fiole A dans B. Titrer rapidement avec la solution de sulfate ferreux ammoniacal jusqu'à décoloration, soit n_4 le nombre de millilitres utilisés.

Expression des résultats

Sachant que 1 mL de la solution de FAS utilisée comme titrant correspond à 0,1 mg/L de chlore, la concentration en chlore dans les échantillons se calcule comme suit :

$$[Cl_2]_{mg/L} = 0{,}1 \times n \times \frac{1\,000}{V}$$

n étant le volume en mL de solution de FAS à 2,8 mmol/L utilisée et V (en mL) mL le volume de la prise d'essai.

Si V est de 100 mL, comme le conseille le protocole, cette expression devient :

$$[Cl_2]_{mg/L} = n$$

Pour chaque espèce (chlore, chloramines, chlore total) les résultats s'expriment en mg/L de chlore (ou mg/L d'équivalent chlore).

Pour une prise d'essai de 100 ml, la concentration des différentes formes du chlore, exprimées en mg/L de chlore, s'obtient par les expressions suivantes :

Teneur en équivalent chlore (en mg/L)	Espèce mesurée
n_1	Chlore libre
n_3	Chlore total
$n_3 - n_1$	Chlore combiné
$n_2 - n_1$	Monochloramine NH_2Cl
$n_3 - n_2$	Dichloramine $NHCl_2$ + ½ Trichloramine NCl_3
n_4	Chlore libre + ½ Trichloramine NCl_3
$n_3 - n_4$	Dichloramine $NHCl_2$
$2(n_4 - n_1)$	Trichloramine NCl_3

Remarques

– Il existe dans le commerce un matériel spécial : éprouvettes, disques colorés, comparateur en lumière du jour et des réactifs présentés en comprimés ou en solution permettant de doser sur la même eau le chlore sous ses différentes formes (total, libre, combiné).

– Si la teneur en dichloramines de l'eau à analyser est peu élevée, n'employer que la moitié de la quantité d'iodure indiquée.

– L'EDTA élimine l'interférence due au cuivre jusqu'à des teneurs de 10 mg/L. Par ailleurs, il retarde l'oxydation de la solution de DPD.

– Le chromate et l'oxyde de manganèse sont susceptibles d'interférer dans les dosages à la DPD. Pour le manganèse, verser dans un bécher 100 mL d'eau à analyser ; ajouter un petit cristal d'iodure de potassium et 1 mL de solution d'arsénite de sodium à 2 % ou de thioacétamide à 2,5 %. Mélanger. Ajouter le

réactif à la DPD et titrer avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration. Soustraire cette lecture de la valeur n_1 pour avoir la teneur en chlore libre.

– Le chrome (VI) oxyde le réactif, cette interférence est évitée en le précipitant à l'état de chromate de baryum par ajout à l'échantillon de 0,2 g de chlorure de baryum ; la filtration est inutile.

– La monochloramine interfère sur le dosage du chlore libre à une teneur supérieure à 2,5 mg/L (3 mg se comportent comme 0,1 mg de chlore) ; ces valeurs se rencontrent fréquemment dans les eaux usées chlorées. Le thioacétamide décomposant les chloramines permet d'éliminer cette interférence. L'ajout de 0,05 mL d'une solution à 0,25 % de thioacétamide à 10 mL d'échantillon permet d'éliminer 11,8 mg/L de chlore des chloramines ; la solution de thioacétamide est introduite après l'addition de celle de DPD.

– En présence d'iodures à une concentration inférieure à 60 µg/L susceptible d'être rencontrée dans l'eau de mer, l'action catalytique des iodures sur le développement de la coloration entraîne une erreur non négligeable dans le dosage du chlore libre.

– L'addition de chlorure mercurique dans la solution tampon sert à éviter le développement des moisissures et élimine une interférence éventuelle liée à la présence d'iodure dans les réactifs au cours de la recherche du chlore libre.

Méthode de référence

NF EN ISO 7393-1 (mars 2000). Qualité de l'eau – Dosage du chlore libre et du chlore total – Partie 1 : méthode titrimétrique à la N, N-diéthyphénylène-1,4 diamine (indice de classement T90-037-1).

■ Méthode spectrométrique à la DPD

Principe

En présence d'oxydants, et à pH compris entre 6,2 et 6,5, la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) s'oxyde en un radical semi-quinonique de couleur rose, qui permet un dosage colorimétrique à 510 nm. L'oxydation de la DPD est rapide le chlore qui réagit instantanément avec la DPD. Le dosage des chloramines nécessite quant à lui l'addition d'ions iodure dans des conditions bien définies (voir préambule du § A-13.1.4).

Domaine d'application

Pour ce dosage colorimétrique, le domaine de linéarité de la loi de Beer Lambert couvre environ la gamme de 0 à 3 mg/L de chlore. La méthode est cependant applicable dans la gamme de 0 à 5 mg/L de chlore, avec une courbe d'étalonnage assez proche d'une droite (courbe polynomiale), dont on pourra utiliser l'équation pour déterminer la concentration en chlore. Une dilution avant le dosage permet d'analyser des concentrations supérieures à 5 mg/L.

La limite de détection est voisine de 0,02 mg/L.

□ Matériel

– Verrerie sans demande en chlore (voir préambule ci-dessus).

– Utiliser de préférence une verrerie séparée pour le dosage du chlore libre et du chlore total, afin d'éliminer toute interférence liée à une contamination de la verrerie par des traces résiduelles d'ions iodure.

– Spectromètre permettant une mesure à 510 nm équipé de cuves d'un trajet optique de 1 cm.

☐ **Réactifs**

– Eau déionisée sans demande en chlore (voir préambule A.13.2.4).
– Solution tampon pH 6,5 (voir méthode titrimétrique DPD).
– Solution de DPD (voir méthode titrimétrique DPD).
– Iodure de potassium (KI) exempt d'ions iodate.
– Solution mère d'iodate de potassium à 1,006 g/L (soit 4,7 mmol/L) :

Iodate de potassium (KIO_3)		1,006 g
Eau déionisée sans demande en chlore	q.s.p.	1 000 mL

– -Solution étalon d'iodate de potassium iodurée à 10,06 mg/L (soit 0,047 mmol/L) :

Solution mère d'iodate de potassium à 1,006 g/L		10 mL
Iodure de potassium (KI)		1 g
Eau déionisée sans demande en chlore	q.s.p.	1 000 mL

1 mL de cette solution correspond à 0,01 mg de chlore.

– Solution d'acide sulfurique 2 N
– Solution d'hydroxyde de sodium 2 N

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Pour l'analyse du chlore par spectrométrie, il est nécessaire de pouvoir disposer d'une gamme d'étalonnage reliant l'absorbance mesurée à la concentration en chlore. La solution la plus classique consisterait à préparer des solutions étalon de concentrations connues. Mais il est nécessaire de disposer d'une solution mère de chlore préalablement dosée par iodométrie, qui servira à la préparation des solutions étalons, et la stabilité des solutions diluées de chlore nécessite une grande rigueur.

D'autres stratégies analytiques consistent :

– soit à remplacer la solution de chlore par un autre oxydant plus facile à maîtriser que le chlore, et qui réagit également avec la DPD pour donner le radical semi-quinonique de couleur rose susceptible d'un dosage colorimétrique à 510 nm. C'est le cas du permanganate de potassium. Une solution de permanganate de potassium à 89,1 mg/L (soit 0,564 mmol/L ou encore 2,82 10^{-3} N) est utilisée et 1 mL de cette solution, réagissant avec la DPD, est équivalent à 1,00 mg de chlore. La préparation de dilutions appropriées permet de réaliser une courbe d'étalonnage dans la gamme 0 à 5 mg/L de chlore,

– soit à utiliser la solution d'iodate de potassium iodurée dont la préparation est décrite dans le paragraphe « réactifs ». En effet, ce réactif iodate/iodure libère de l'iode :

$$IO_3^- + 5\ I^- + 6\ H^+ \rightarrow 3\ I_2 + 6\ H_2O$$

L'iode formé réagit ensuite avec la DPD exactement comme le chlore, une mole d'iodate correspondant à 3 moles d'iode ou de chlore.

C'est cette méthode d'étalonnage que nous présentons ci-dessous.

Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire des quantités croissantes de la solution étalon d'iodate/iodurée de façon à obtenir une gamme de concentration s'étendant de 0,03 à 5 mg/L d'équivalent chlore (soit 0,423 à 70,5 μmol/L). Ajouter ensuite dans l'ordre les réactifs indiqués dans le tableau suivant et compléter à 100 ml avec de l'eau déionisée.

Solution étalon d'iodate de potassium iodurée (mL)	0	3	5	10	25	50
Solution d'acide sulfurique 2N (mL)	1					
Attendre 1 minute						
Solution d'hydroxyde de sodium 2 N (mL)	1					
Eau déionisée	q.s.p. 100 mL					
Correspondance en chlore en mg/L	0	0,3	0,5	1	2,5	5

Transvaser successivement le contenu de chaque fiole jaugée dans une fiole conique contenant depuis moins d'une minute :

– 5 ml de solution tampon pH 6,5.

– 5 mL de la solution de DPD.

Mélanger puis effectuer les mesures au spectromètre à 510 nm, dans un délai maximal de 2 minutes. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

La démarche opératoire est semblable à celle développée pour le dosage titrimétrique par la DPD.

Dosage du chlore libre

Dans une fiole conique de 100 mL, verser 5 mL de solution tampon pH 6,5 et 5 mL de solution de DPD. Ajouter 100 mL d'eau à analyser et mélanger. Mesurer, dans les 2 minutes, l'absorbance à 510 nm de cette solution. Utiliser la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration C_1 en mg/L.

Dosage de la monochloramine

Dans la même fiole ajouter environ 0,5 mg d'iodure de potassium (soit un tout petit cristal) ou encore 0,1 mL d'une solution aqueuse d'iodure de potassium à 5 g/L. Mélanger vivement et lire immédiatement (délai inférieur à 1 minute) l'absorbance de la solution. Soit C_2 la concentration correspondante en mg/L.

Dosage du chlore total

Toujours dans la même fiole, ajouter environ 0,1 g d'iodure de potassium et agiter rapidement. Laisser agir 2 minutes et mesurer l'absorbance. Soit C_3 la concentration correspondante en mg/L.

Dosage séparé de la dichloramine et de la trichloramine

Dans une fiole conique contenant 100 mL d'eau à analyser ajouter environ 0,5 mg d'iodure de potassium et mélanger. Verser dans une seconde fiole conique contenant 5 mL de solution tampon pH 6,5 et 5 mL de solution de DPD. Mélanger et mesurer immédiatement l'absorbance. Soit C_4 la concentration correspondante en mg/L.

Expression des résultats

Teneur en équivalent chlore (en mg/L)	Espèce mesurée
C_1	Chlore libre
C_3	Chlore total
$C_3 - C_1$	Chlore combiné
$C_2 - C_1$	Monochloramine NH_2Cl
$C_3 - C_2$	Dichloramine $NHCl_2$ + ½ Trichloramine NCl_3
C_4	Chlore libre + ½ Trichloramine NCl_3
$C_3 - C_4$	Dichloramine $NHCl_2$
$2\ (C_4 - C_1)$	Trichloramine NCl_3

Remarque

Se reporter aux remarques de la méthode titrimétrique

Méthode de référence

NF EN ISO 7393-2 (mars 2000). Qualité de l'eau – Dosage du chlore libre et du chlore total – Partie 2 : méthode colorimétrique à la N, N-diéthyphénylène-1,4 diamine (indice de classement T90-037-2).

■ Méthode à l'orthotolidine/arsénite (dosage du chlore total, du chlore libre et du chlore combiné)

Cette méthode permet de différencier le chlore résiduel libre, le chlore combiné et, de plus, d'effectuer les dosages en présence de substances interférentes comme les nitrites, les composés ferriques ou manganiques. Le chlore libre réagit immédiatement sur l'orthotolidine alors que combiné, il réagit lentement.

Cette méthode ne permet pas de différenciés les mono-, di-, et trichloramines.

□ Principe

En milieu acide, l'orthotolidine est oxydée par les halogénes et les amines halogénées en une holoquinone de couleur jaune qui absorbe à 440 nm. L'ajout d'un réducteur (arsénite de sodium) dans des conditions strictes empêche cette oxydation par les chloramines ou par le chlore libre.

□ Réactifs

- Solution d'orthotolidine à 0,1 %.
- Solution tampon de phosphates à 0,5 *M*.
- Solution tampon diluée de phosphates à 0,1 M.
- Solution de chromate-dichromate.

Pour la préparation de ces quatre réactifs, se reporter à la méthode de dosage du chlore résiduel total par l'orthotolidine (A-13.2.3).

– Solution d'arsénite de sodium à 5 g/L :

méta-arsénite de sodium ($NaAsO_2$)		0,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution d'acide oxalique à saturation.

☐ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Se reporter à la méthode de dosage du chlore résiduel total à l'orthotolidine (A-13.2.3).

☐ **Mode opératoire**

Dans le tube I, introduire 0,75 mL de solution d'orthotolidine à 0,1 % puis 15 mL d'eau à analyser. Mélanger rapidement et ajouter immédiatement après, en moins de 5 secondes, 0,75 mL de solution d'arsénite de sodium qui empêche les chloramines d'agir. Mélanger. Effectuer la lecture spectrométrique (I) aussitôt après. La mesure correspond au chlore libre et aux substances interférentes.

Dans le tube II, introduire 0,75 mL de solution d'arsénite de sodium puis 15 mL d'eau à analyser. Mélanger rapidement et ajouter, immédiatement après, 0,75 mL d'orthotolidine à 0,1 %. Mélanger rapidement et effectuer la lecture (II_1) aussitôt après. Attendre 5 minutes et faire une seconde lecture (II_2). La solution arsénieuse réduisant d'abord le chlore libre et les chloramines, la mesure correspond aux substances interférentes décelées immédiatement et au bout de 5 minutes.

Dans le tube III, introduire 0,75 mL de solution d'orthotolidine à 0,1 % puis 15 mL d'eau à analyser. Mélanger rapidement. Effectuer la lecture (III) exactement au bout de 5 minutes. La mesure correspond au chlore résiduel total et aux substances interférentes.

D'une façon générale, effectuer les lectures spectrométriques à 440 mm comme indiqué dans le dosage du chlore résiduel par la méthode à l'orthotolidine.

☐ **Expression des résultats**

Se reporter à la courbe d'étalonnage pour déterminer les concentrations dans les différents tubes (en mg/L de chlore).

Chlore résiduel total = (III) – (II_2).

Chlore résiduel libre = (I) – (II_1).

Chlore combiné = chlore résiduel total – chlore résiduel libre.

Remarques

– L'orthotolidine donne avec le dioxyde de chlore la même coloration qu'avec le chlore.

– Les quantités de réactifs à ajouter sont proportionnelles au nombre de millilitres d'eau à analyser. Respecter la quantité de 0,25 mL de réactif pour 5 mL d'eau.

– La température doit être constante pendant tous les essais et comprise entre 15 et 20 °C.

– Les essais doivent être effectués immédiatement après les prélèvements.

■ Méthode à la syringaldazine (dosage du chlore libre en présence de chloramines)

□ Principe

La syringaldazine oxydée par le chlore libre donne avec celui-ci une coloration rouge violet susceptible d'un dosage spectrométrique à 530 nm. Le maximum de coloration est obtenu à *p*H compris entre 6,5 et 6,8.

□ Réactifs

– Eau déionisée exempte de chlore.

– Solution tampon *p*H 6,9 :

hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4 , 2 H_2O)		44,5 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		34 g
eau permutée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Mélange tertiaire d'alcools :

éthanol		90 mL
méthanol		5 mL
isopropanol		5 mL

– Solution mère de syringaldazine à 0,1 % :

syringaldazine		100 mg
mélange tertiaire d'alcools	*q.s.p.*	100 mL

Cette solution est stable.

– Solution fille de syringaldazine à 0,008 % :

solution mère		25 mL
mélange tertiaire d'alcools	*q.s.p.*	200 mL

– Solution étalon de chlore à 1 mg/L :

Utiliser une solution d'hypochlorite de sodium ou préparer une solution par barbotage de chlore dans l'eau. Titrer ces solutions par iodométrie puis effectuer des dilutions de façon à obtenir une solution étalon contenant 1 mg/L de chlore. Les solutions étalons sont préparées juste avant leur utilisation à cause de leur instabilité.

□ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 25 mL, introduire successivement :

Solution de chlore à 1 mg/L (mL)	0	1	2	5	10
Eau déionisée (mL)	10	9	8	5	0
Solution tampon (mL)	5	5	5	5	5
Solution de syringaldazine à 0,008 % (mL)	10	10	10	10	10
Correspondance (mg/L) de Chlore (*)	0	0,1	0,2	0,5	1

(*) Dans les conditions du dosage.

Mélanger. Attendre 1 minute puis effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 530 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Dans une fiole conique de 50 mL, introduire 10 mL d'eau à analyser, 5 mL de solution tampon et 10 mL de solution de syringaldazine à 0,008 %. Attendre 1 minute puis effectuer les lectures au spectromètre à la longueure d'onde de 530 nm. Tenir compte de la valeur du témoin, se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe donne directement la teneur en chlore libre, exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La limite de détection est de 0,1 mg/L.

– La syringaldazine ne réagit pas sur la mono- et la dichloramine ; la trichloramine réagit en partie. Le fer ferreux, le cuivre, le calcium et le magnésium n'interfèrent pas. Le fer ferrique interfère mais il peut être facilement complexé par l'EDTA.

Méthode ampérométrique

Principe

En présence de chlore, le courant de conductance qui traverse l'échantillon augmente proportionnellement à la concentration de l'échantillon et décroît en présence d'un réducteur pour se stabiliser dès que celui-ci est en excès. La fin de la réaction d'oxydo-réduction est signalée par le micro-ampèremètre.

Les différentes formes du chlore sont dosées en ajustant le *p*H et en présence ou non d'iodure de potassium : le chlore libre à un *p*H compris entre 6,5 et 7,5, zone dans laquelle le chlore combiné réagit lentement. Le chlore combiné est dosé à son tour à *p*H compris entre 3,5 et 4,5, en présence d'une quantité convenable d'iodure de potassium. La différenciation de la mono- et de la dichloramine repose sur le fait que la monochloramine déplace l'iodure de potassium plus rapidement que la dichloramine.

Matériel spécial

– Micro-ampèremètre de laboratoire adapté au dosage du chlore (titration chlore/oxyde de phénylarsine) comportant un couple d'électrode indicatrice en platine et une électrode de référence Ag/AgCl.

– Agitateur.

Réactifs

– Solution d'oxyde de phénylarsine 0,00564 *N* :

oxyde de phénylarsine		0,8 g
solution d'hydroxyde de sodium 0,3 *N*		150 mL
solution d'acide chlorhydrique 6 *N*	*q.s.p.*	*p*H 6 ou 7

Dissoudre 0,8 g d'oxyde de phénylarsine dans 150 mL de solution d'hydroxyde de sodium. Agiter, laisser décanter, éliminer une partie du surnageant. Prélever environ 110 mL de décantat, ajouter 800 mL d'eau déionisée. Mélanger, ajuster à *p*H 6-7 au moyen de la solution d'acide chlorhydrique, compléter le volume à 950 mL avec de l'eau déionisée.

Vérification du titre de la solution : Introduire dans une fiole conique 5 mL d'une solution étalon d'iode 0,0282 *N*, ajouter environ 20 mL d'eau déionisée puis 1 mL d'une solution

d'iodure de potassium à 10 % et quelques gouttes de solution d'amidon. Titrer avec la solution d'oxyde de phénylarsine. Ajuster le titre à 0,00564 *N* puis vérifier à nouveau sur la solution étalon d'iode. 1 mL de cette solution correspond à 200 µg de chlore.

– Solution tampon *p*H 7 :

dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH_2PO_4)		25,4 g
phosphate de sodium disodique anhydre (Na_2HPO_4)		34,1 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'iodure de potassium à 50 g / L.

Conserver cette solution au réfrigérateur en flacon brun bouché émeri. Éliminer cette solution dès l'apparition d'une coloration jaune.

– Solution tampon *p*H 4 :

acétate de sodium ($NaC_2H_3O_2$, 3 H_2O)		243 g
acide acétique		480 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

□ Mode opératoire

Plonger les électrodes dans l'échantillon d'eau, en maintenant le milieu sous agitation.

Détermination du chlore libre

Prélever 200 mL d'une eau dont la concentration en chlore résiduel est inférieure à 2 mg / L. Si la concentration est supérieure, opérer sur une prise d'échantillon plus faible. Ajouter 1 mL d'une solution tampon *p*H 7, titrer avec la solution étalon d'oxyde de phénylarsine en observant les variations du courant sur le micro-ampèremètre. Arrêter les ajouts lorsque la valeur sur l'écran est stable. Soit *V* le nombre de millilitres de solution d'oxyde de phénylarsine utilisés.

Détermination du chlore total et du chlore combiné

Poursuivre le dosage sur le même échantillon, ajouter 1 mL de solution d'iodure de potassium puis 1 mL de solution tampon *p*H 4. Titrer avec la solution étalon d'oxyde de phénylarsine comme précédemment. Ne pas remplir la burette mais poursuivre simplement le dosage après avoir noté la lecture correspondant au chlore libre. Soit V_1 le nombre de millilitres de solution étalon réellement utilisés, ce chiffre représente le chlore total. En soustrayant le chlore libre du chlore total, on obtient le chlore combiné.

Monochloramine

Après dosage du chlore libre, ajouter 0,2 mL de solution d'iodure de potassium sur le même échantillon et sans remplir la burette, poursuivre l'analyse avec la solution d'oxyde de phénylarsine. Soustraire la lecture faite pour le chlore libre pour obtenir le volume net de solution étalon utilisé par la monochloramine.

Dichloramine

Ajouter toujours au même échantillon 1 mL de solution tampon *p*H 4 et 1 mL de solution d'iodure de potassium et doser comme précédemment. Retrancher la lecture précédente pour obtenir le volume de solution étalon utilisé pour la dichloramine.

□ Expression des résultats

La teneur en chlore libre, en chlore combiné, en chlore total, en monochloramines ou dichloramines exprimée en mg/L est obtenue à partir de la formule :

$$\text{Chlore (mg/L)} = \frac{V \times 200}{\text{volume échantillon}}$$

V = volume en mL de solution d'oxyde de phénylarsine utilisé respectivement pour chacune des déterminations.

Remarques

– Il est possible de déterminer le chlore total et le chlore libre sur des échantillons séparés.

– Pour le dosage du chlore total, il est préférable d'utiliser une méthode par retour en particulier dans le cas des eaux usées.

À 200 mL d'eau ajouter un volume connu de solution de phénylarsine, soit N mL, puis 1 mL de solution tampon pH 4 et 1 mL de solution d'iodure de potassium ; titrer l'excès de phénylarsine avec la solution étalon d'iode 0,0282 N, soit n mL utilisés.

La teneur en chlore total exprimée en mg/L correspond à

$$(N - n) \times \frac{V \times 200}{\text{volume échantillon}}$$

– Le trichlorure d'azote, le dioxyde de chlore, l'ozone, des ions gênants comme Ag^+ et Cu perturbent le dosage. Par contre, le fer, le manganèse, les nitrites n'interfèrent pas. Il en est de même pour la température, la couleur et la turbidité.

13.2.5 Demande en chlore

■ Objectifs

Déterminer la demande en chlore d'une eau permet d'évaluer le taux de chloration à appliquer à l'eau à traiter pour obtenir une teneur résiduelle en chlore donnée, après un temps de contact fixé et à une température donnée. Cette demande en chlore doit être effectuée en fonction des objectifs de la détermination et dans les conditions pratiques de l'installation : température de l'eau, temps de stockage de l'eau chlorée dans le réservoir (en général 1 à 2 heures) ou temps de séjour de l'eau dans le réseau (quelques heures à quelques dizaines d'heures).

■ Principe

Dans une série de flacons contenant un même volume d'eau à analyser, on ajoute des concentrations croissantes de chlore. La demande en chlore de l'eau est donnée par le premier flacon dans lequel on décèle la présence de chlore libre après un temps de contact déterminé (généralement 1 à 2 heures).

□ Matériel et réactifs

À adapter en fonction de la méthode de dosage du chlore choisie : chlore libre seulement ou chlore libre et chlore combiné (cf. § A-13.2.3 et A-13.2.4).

– solution d'hypochlorite de sodium à environ 1 g/L.

Préparer cette solution en diluant une solution commerciale d'hypochlorite de sodium ou d'eau de Javel. Ajuster le pH de cette solution à un pH d'environ 8,8 à 9,2 à l'aide d'acide chlorhydrique.

Déterminer le titre exact de cette solution par la méthode iodométrique (cf. § A-13.2.3).

Mode opératoire

Préparer une série de 6 à 10 flacons soigneusement nettoyés (sans demande en chlore). Introduire dans chaque flacon 250 mL d'eau à analyser, puis des volumes croissants (*) de la solution de chlore de manière à obtenir une gamme de concentration en chlore appliqué compatible avec la qualité de l'eau.

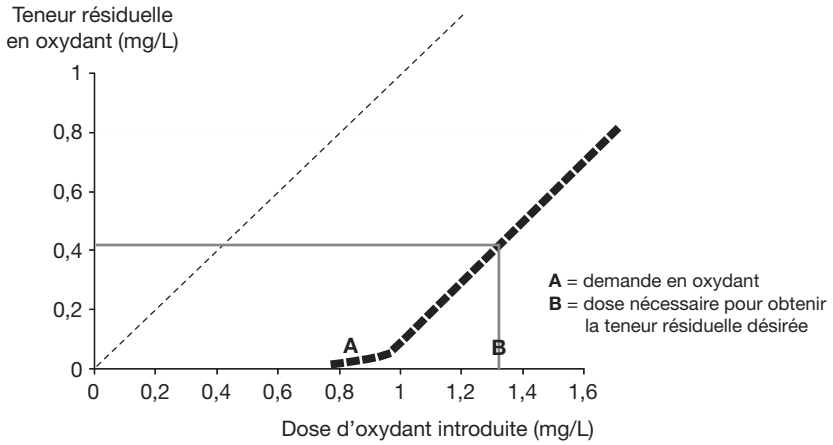
Agiter et boucher les flacons. Placer à l'abri de la lumière.

Au bout du temps de contact défini, doser le chlore résiduel libre (ou le chlore résiduel libre et total) dans chacun des flacons. La méthode généralement employée est la méthode à la DPD (colorimétrie ou titrimétrie), mais toutes les méthodes décrites dans le paragraphe A-13.2.4 peuvent convenir.

Le tracé de la courbe représentant la quantité de chlore résiduel libre en fonction du chlore introduit permet de déterminer (voir figure ci-dessous) :

– la demande en chlore de cette eau, qui correspond au taux de chloration à appliquer pour voir apparaître une teneur résiduelle en chlore libre (point A),

– la dose de chlore à appliquer à cette eau pour satisfaire la demande en chlore et obtenir, après le temps de contact fixé, une teneur en chlore résiduel donnée (point B).



Il est important de mesurer la concentration en chlore résiduel libre, car il représente la forme du chlore la plus efficace en désinfection, mais il

(*) les volumes introduits devront être suffisamment faibles pour ne pas augmenter le volume de l'échantillon traité de plus de 2 % et ne pas influencer la signification du test.

peut être intéressant de déterminer également le chlore total (chlore libre + chlore combiné) en fonction de la dose de chlore introduite. Pour les eaux contenant de l'ammoniaque, cela permet en effet de tracer la courbe dite « de break point » décrite au paragraphe A-13.2.1.

Remarques

– Il est important de vérifier que l'ajout de doses croissantes de chlore dans les eaux à traiter n'augmente pas le pH de ces eaux. Cela peut se produire dans les eaux peu tamponnées et lors de l'ajout de doses de chlore élevées. Le contrôle du pH de la solution d'hypochlorite de sodium utilisé pour les ajouts (pH compris entre 8,8 et 9,2) suffit généralement à éviter ce problème.

– Certaines déterminations spécifiques peuvent compléter les informations apportées par le tracé de ces courbes de demande en chlore, en particulier la formation de composés organohalogénés (THM ou TOX).

– Pour certaines études, il est intéressant de déterminer la demande en chlore pour différents temps de contact.

– Une méthode rapide de détermination de la demande en chlore est parfois mise en œuvre. Elle consiste à n'employer qu'une seule dose de chlore largement excédentaire. Après un temps de contact défini, on détermine la teneur résiduelle en chlore libre. Sur un graphique représentant le chlore résiduel libre en fonction du chlore introduit, on place le point correspondant à cette expérimentation. Une droite de pente 1 passant par ce point coupe l'axe des abscisses en un point qui donne une valeur approximative de la demande en chlore de cette eau.

13.3 Dioxyde de chlore

13.3.1 Chimie et réactivité du dioxyde de chlore

À température ambiante, le dioxyde de chlore (ClO_2) est un gaz 2,4 fois plus dense que l'air, dont la solubilité dans l'eau est élevée. À pH neutre, sa dissolution dans l'eau conduit à un mélange des acides chloreux et chlorique :

$$2\ ClO_2 + H_2O \leftrightarrows HClO_2 + HClO_3 \qquad k = 1{,}2\ 10^{-7} \text{ à } 20\ °C$$

En milieu basique, le dioxyde de chlore se dismute pour donner une mole de chlorite et une mole de chlorate :

$$2\ ClO_2 + 2\ OH^- \rightarrow ClO_2^- + ClO_3^- + H_2O$$

Pour le traitement des eaux, le dioxyde de chlore est le plus souvent préparé en faisant agir du chlore (en léger excès) sur du chlorite de sodium :

$$2\ NaClO_2 + Cl_2 \rightarrow 2\ ClO_2 + 2\ NaCl$$

Le dioxyde de chlore ainsi produit contient des traces de chlore, dont l'action oxydante et bactéricide s'ajoutera à celle du dioxyde de chlore, mais cela présente l'inconvénient de former des composés organohalogénés et de conduire à la production de traces de chlorates (ClO_3^-) :

$$HClO + ClO_2^- \rightarrow ClO_3^- + Cl^- + H_2O$$

Une autre méthode utilise l'acide chlorhydrique ; elle évite ces inconvénients, mais consomme plus de chlorite :

$$5\ NaClO_2 + 4\ HCl \rightarrow 4\ ClO_2 + 5\ NaCl + 2\ H_2O$$

Le dioxyde de chlore réagit avec certains composés minéraux présents dans l'eau : Fe^{2+}, Mn^{2+}, S^{2-}, NO_2^-, CN^-, Br^-, I^-. Le fer et le manganèse sont oxydables à pH neutre, et les vitesses de réaction sont plus élevées qu'avec le chlore :

$$Fe^{2+} + ClO_2 \rightarrow Fe^{3+} + ClO_2^-$$

$$Mn^{2+} + 2\ ClO_2 \rightarrow Mn^{4+} + 2\ ClO_2^-$$

La réaction conduit à la formation d'ions chlorite (ClO_2^-).

Le dioxyde de chlore possède également une bonne réactivité avec les composés organiques présents dans les eaux naturelles (substances humiques en particulier, avec une réactivité marquée sur les structures aromatiques de type phénols, aminophénols ou nitrophénols. Comparativement au chlore, son action sur la matière organique ne conduit qu'à une faible production de composés organohalogénés (TOX). Comme avec les composés minéraux, cette action sur la matière organique s'accompagne de la réduction du dioxyde de chlore en ions chlorite, avec une production de chlorites qui correspond à environ 70 % de la quantité de dioxyde de chlore consommé.

13.3.2 Préparation des solutions mères de dioxyde de chlore

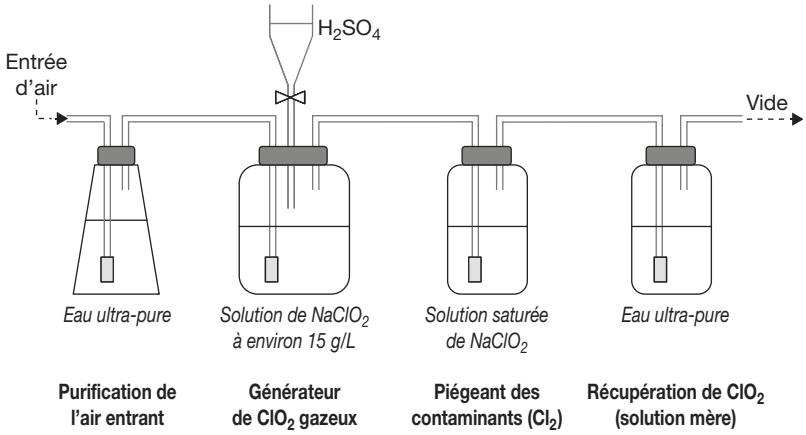
Une solution standard de dioxyde de chlore est préparée par addition lente d'un acide fort (l'acide sulfurique) à une solution de chlorite de sodium ($NaClO_2$) :

$$5\ ClO_2^- + 4\ H^+ \leftrightarrows 4\ ClO_2 + 2\ H_2O + Cl^-$$

Le gaz ClO_2 formé par cette réaction est recueilli dans une solution d'eau ultra-pure, après passage dans une solution saturée de chlorite de sodium destinée à piéger un éventuel dégagement de chlore.

Le montage permettant cette préparation est placé sous une hotte, avec un écran de protection efficace.

Chaque flacon, en verre borosilicaté, d'un volume d'environ de 800 à 2000 mL, est équipé d'un bouchon étanche. Des connexions étanches dans ces bouchons permettent d'une part la circulation des gaz grâce à des tubes en verre ou en téflon (d'un diamètre intérieur d'environ 5 mm) et d'autre part l'apport de réactifs (acide sulfurique). Des embouts en verre fritté, adaptés à l'extrémité des tubes qui barbotent dans les solutions, permettent une meilleure diffusion des gaz.



Le générateur de dioxyde de chlore contient environ 750 mL d'une solution de chlorite de sodium à 15 g/L et l'entonnoir permettant l'introduction d'acide contient 20 mL d'acide sulfurique concentré dilué au 1/10e (2 mL H_2SO_4 concentré + 18 mL d'eau).

Un courant gazeux (bullage régulier) est établi dans le circuit, soit par aspiration sous vide, soit par apport d'air comprimé. On peut ensuite admettre l'acide sulfurique, par portions maximales de 5 mL, chaque ajout étant espacé d'au moins 5 minutes. Poursuivre la circulation d'air environ 30 minutes après l'ajout de la dernière portion. La solution mère de dioxyde de chlore est recueillie dans un flacon contenant 1 000 à 1 500 mL d'eau ultra-pure.

> Attention aux risques d'explosion, car le dioxyde de chlore est explosif pour des concentrations dans l'air supérieures à 10 % en volume, et le chlorite de sodium risque de provoquer des explosions en réagissant avec des substances oxydables.

La solution mère de dioxyde de chlore ainsi préparée contient entre 250 et 600 mg/L de ClO_2 (soit 3,7 à 8,9 mmol/L), ainsi que des traces d'ions chlorites et dans une moindre mesure d'ions chlorate. Son pH est de l'ordre de 3 à 4. Stockée dans un flacon ambré à 4 °C, cette solution peut être conservée environ une semaine, en prenant soin de contrôler sa concentration (cf. § A-13.3.3). Les solutions diluées nécessaires aux expérimentations sont préparées chaque jour et titrées (cf. § A-13.3.4).

13.3.3 Analyse des solutions concentrées

L'analyse de solutions concentrées en dioxyde de chlore se pratique le plus souvent par la détermination de l'absorbance UV des solutions, mais on peut également faire appel à la méthode iodométrique beaucoup plus longue et délicate, mais qui permet d'accéder en parallèle aux teneurs de la solution en ions chlorite et en chlore.

■ Dosage par spectrométrie UV

En milieu aqueux, et dans la gamme de pH de 4 à 10, le dioxyde de chlore présente une absorption élevée dans l'UV (λ_{max} = 360 nm, ε = 1 200 L

mol^{-1} cm^{-1}). Concernant le chlore et les ions chlorite, éventuellement présents dans les solutions mères de dioxyde de chlore, leur absorption maximale se situe respectivement autour de 290 nm pour le chlore (à pH 7,4) et vers 260 nm pour les ions chlorite.

La mesure de l'absorbance UV à 360 nm d'une solution mère de dioxyde de chlore permet donc d'accéder à sa concentration, sans interférence significative du chlore et des ions chlorite, en utilisant la loi de BEER-LAMBERT (cf. § A-7.1.1) :

$$A = \varepsilon.C.l$$

A : absorbance (ou densité optique) à une longueur d'onde λ.

ε : coefficient d'absorption molaire de la substance en solution (en L. mol^{-1}. cm^{-1}) à la longueur d'onde λ considérée.

C : concentration de l'entité absorbante dans la solution (en mol. L^{-1}).

l : longueur du trajet optique (en cm), qui correspond à l'épaisseur de la cuve de mesure

La concentration se calcule donc comme suit, le trajet optique l étant le plus souvent de 1 cm :

$$C_{mol\ L^{-1}} = \frac{A}{\varepsilon.l} \qquad \text{avec } \varepsilon = 1\,200 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

Cette mesure semble indépendante de la température du milieu, de son pH (dans une gamme de 4 à 10) et de la force ionique du milieu.

■ Méthode iodométrique

La méthode iodométrique permet le dosage simultané du dioxyde de chlore en présence de chlore et de chlorites.

Principe

La méthode iodométrique consiste à libérer de l'iode par action du dioxyde de chlore sur les ions iodure. L'iode est ensuite dosé par le thiosulfate de sodium.

Mais en présence simultanée de chlore et d'ions chlorite, la détermination est plus complexe, ces composés réagissant également dans certaines conditions avec les ions iodure. Ainsi, en milieu neutre (pH 7), seuls le dioxyde de chlore et le chlore (éventuellement présent) peuvent réagir, alors qu'en milieu acide (pH 2), la réaction concerne le dioxyde de chlore, mais aussi le chlore et les ions chlorite.

L'oxydation par le dioxyde de chlore des ions iodure à pH 7 conduit à la libération d'une mole d'iode pour 2 moles de ClO_2 :

$$2\ ClO_2 + 2\ I^- \rightarrow I_2 + 2\ ClO_2^- \qquad \text{(a)}$$

Les ions iodure sont également oxydés par le chlore en milieu neutre ou en milieu acide, avec libération d'une mole d'iode par mole de chlore :

$$Cl_2 + 2\ I^- \rightarrow I_2 + 2\ Cl^- \qquad \text{(b)}$$

Par contre les ions chlorite ne réagissent que très lentement à ce pH, et la réaction ne devient rapide qu'en milieu acide (pH $\leq$ 2), une mole d'ions chlorite libérant 2 moles d'iode :

$$ClO_2^- + 4\ I^- + 4\ H^+ \rightarrow 2\ I_2 + Cl^- + 2\ H_2O \qquad (c)$$

En milieu acide le dioxyde de chlore réagit quant à lui selon la réaction suivante, qui conduit à la libération de 5/2 moles d'iode par mole de dioxyde de chlore :

$$2\ ClO_2 + 10\ I^- + 8\ H^+ \rightarrow 5\ I_2 + 2\ Cl^- + 4\ H_2O \qquad (d)$$

Si l'on porte à pH basique un échantillon contenant un mélange de dioxyde, de chlore et de chlorites, il se produit une dismutation du dioxyde de chlore, conduisant à la formation de chlorites, à raison d'1 mole d'ions chlorite pour 2 moles de dioxyde de chlore :

$$2\ ClO_2 + 2\ OH^- \rightarrow ClO_2^- + ClO_3^- + H_2O \qquad (e)$$

Après cette dismutation, tout le dioxyde présent est transformé en ions chlorite (réaction e) qui ne réagissent sur les ions iodure qu'à pH acide. Donc si l'échantillon ayant subi la dismutation en milieu basique est ensuite porté à pH 7, seul le chlore réagira sur les ions iodure (réaction b), avec libération d'une mole d'iode par mole de chlore.

En résumé :

Conditions du dosage	Nombre de moles des espèces correspondant à la libération d'une mole d'iode
pH = 7,2	$Cl_2 + 2\ ClO_2$
pH = 2	$Cl_2 + 2/5\ ClO_2 + ½\ ClO_2^-$
Dismutation en milieu basique puis acidification à pH 7	Cl_2

Les résultats de ces 3 dosages vont permettre de calculer les concentrations respectives des 3 espèces.

☐ **Réactifs**

– Iodure de potassium (KI) en cristaux, exempt d'iodate,
– Thiosulfate de sodium 0,1 N (= 0,1 M)
– Acide phosphorique (d = 1,7),
– Hydroxyde de sodium 10 N,
– Solution tampon pH 7,2

Phosphate monosodique dihydraté (NaH_2PO_4, $2H_2O$)		28,2 g
Phosphate disodique, dodécahydraté ($Na2HPO_4$, $12H_2O$)		100 g
Eau déionisée	q.s.p.	1000 mL

Dissoudre les sels dans environ 800 mL d'eau déionisée, ajuster si nécessaire le pH à 7,2 et compléter à 1000 mL.

– Indicateur d'iode au choix : thiodène en poudre, empois d'amidon (solution à 10 g/L)…

☐ **Mode opératoire**

DOSAGE EN MILIEU NEUTRE (pH = 7,2)

Dans une fiole conique de 250 mL :

– introduire environ 100 mL d'eau déionisée

– ajouter 20 mL de solution tampon pH 7,2 et environ 1 g d'iodure de potassium

– ajouter rapidement 10 mL d'échantillon

– placer la fiole à l'obscurité pendant 10 minutes

– titrer avec la solution de thiosulfate de sodium de normalité N jusqu'à décoloration, en présence d'indicateur d'iode. Soit A le nombre de mL de thiosulfate utilisé.

DOSAGE EN MILIEU ACIDE (pH = 2)

Dans une fiole conique de 250 mL :

– introduire environ 100 mL d'eau déionisée,

– ajouter 5 mL d'acide phosphorique et environ 1 g d'iodure de potassium,

– ajouter rapidement 10 mL d'échantillon,

– placer la fiole à l'obscurité pendant 10 minutes,

– titrer avec la solution de thiosulfate de sodium de normalité N jusqu'à décoloration, en présence d'indicateur d'iode. Soit B le nombre de mL de thiosulfate utilisé.

DOSAGE EN MILIEU NEUTRE (pH = 7,2) APRÈS DISMUTATION DU DIOXYDE DE CHLORE

Dans une fiole conique de 250 mL :

– introduire environ 100 mL d'eau déionisée,

– ajouter 3 mL de solution d'hydroxyde de sodium 10 N,

– ajouter rapidement 10 mL d'échantillon,

– laisser à la lumière jusqu'à ce que la solution se décolore (soit environ 30 minutes),

– ajuster le pH à environ 7,2 avec la solution tampon phosphate,

– ajouter environ 1 g d'iodure de potassium,

– placer la fiole à l'obscurité pendant 10 minutes,

– titrer avec la solution de thiosulfate de sodium de normalité N jusqu'à décoloration, en présence d'indicateur d'iode. Soit C le nombre de mL de thiosulfate utilisé.

Expression des résultats

Selon les équations présentées précédemment, les volumes A, B et C de solution de thiosulfate de sodium de normalité N employés pour les titrations dans les différentes conditions analytiques proposées correspondent respectivement :

– Pour A à $Cl_2 + 2\ ClO_2$

– Pour B à $Cl_2 + 2/5\ ClO_2 + ½\ ClO_2^-$

– Pour C à Cl_2

En conséquence :

– Cl_2 correspond donc à C

– ClO_2 correspond donc à ½ (A – C)

– ClO_2^- correspond donc à 1/5 (10B – A – 9C)

Pour un volume X de la solution de thiosulfate de sodium de normalité N et un volume V d'échantillon utilisé, la concentration de l'entité dosée serait :

$$[\text{Concentration}]_{mol/L} = \frac{X \,.\, N}{V}$$

$$\text{Soit : } [\text{Concentration}]_{mg/L} = \frac{X \,.\, N}{V} \,.\, \text{Masse Molaire} \,.\, 1\,000$$

Pour N = 0,1 et V = 10 mL, cette expression devient :

Concentration (mg/L) = 10. X. Masse molaire.

D'où :

$[ClO_2]_{mg/L} = 675 \times [½ (A – C)]$

$[Cl_2]_{mg/L} = 355 \times C$

$[ClO_2^-]_{mg/L} = 675 \times [1/5 (10B – A – 9C)]$

13.3.4 Dosage du dioxyde de chlore résiduel

De nombreuses méthodes de dosage permettent la détermination de faibles concentrations en dioxyde de chlore dans les eaux, mais un certain nombre s'avère incapable d'analyser sélectivement le dioxyde de chlore. Les principales espèces interférentes peuvent être les ions chlorite ou chlorate, le chlore, de même que la monochloramine, ou encore parfois Fe^{III} ou Mn.

Les quatre méthodes les plus usitées pour le dosage du dioxyde de chlore résiduel sont présentées ci-après. Parmi celles-ci, 2 méthodes spectrométriques possèdent une bonne sélectivité, sans interférences significatives : il s'agit de méthodes utilisant deux colorants (alizarine violet 3R ou amarante), qui se décolorent par oxydation en présence de dioxyde de chlore. La différence de coloration, mesurée à une longueur d'onde convenable, est proportionnelle à la teneur en dioxyde de chlore.

Les 2 autres techniques analytiques décrites ensuite (dosage à la DPD et ampérométrie) sont intéressantes mais plus longues et complexes à mettre en œuvre. Non spécifiques du dioxyde de chlore car elles concernent toutes les formes oxydantes présentes dans la solution, elles requièrent plusieurs étapes successives, dans des conditions parfaitement standardisées avec des opérateurs expérimentés.

■ Méthode spectrométrique à l'Alizarine Violet 3R ou Acide Chrome Violet K (connu sous le nom d'ACVK)

Principe

Le dioxyde de chlore oxyde le colorant Alizarine Violet 3R, conduisant à sa décoloration. L'absorbance des solutions est mesurée à 548 nm. La différence de mesure d'absorbance entre un blanc qui ne contient pas de dioxyde de chlore et un échantillon contenant du dioxyde de chlore permet le calcul de la concentration dans l'échantillon.

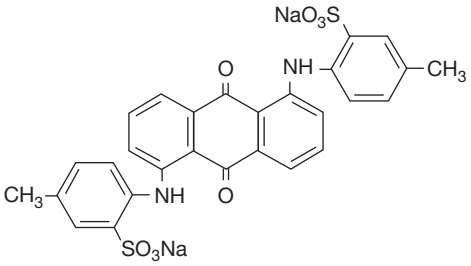
Les interférences observées avec cette méthode sont minimales. L'utilisation d'un tampon NH_3/NH_4Cl permet d'empêcher l'interférence du chlore. Quant

aux ions chlorite, ils ne produisent aucune interférence pour des concentrations inférieures à 1 g/L.

☐ **Réactifs**

– solution d'Alizarin Violet 3R (*)

Alizarin Violet 3R sel disodique		124,45 mg
Héxamétaphosphate de sodium $(NaPO_3)_{12\text{-}13}Na_2O$ (à 65-70 % de P_2O_5)		20 mg
Chlorure d'ammonium NH_4Cl		48,5 g
Ammoniaque à 20 % massique		8,7 mL
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL



Dans une fiole jaugée de 1 000 mL, introduire environ 50 mL d'eau déionisée. Dissoudre ensuite les différents composés dans l'ordre cité. Compléter à 1 000 mL, puis mettre sous agitation à l'obscurité pendant 24 h.

Une dilution au 1/10e de cette solution dans l'eau déionisée doit posséder un pH compris entre 8,1 et 8,5 et une absorbance à 548 nm proche de 0,145 cm^{-1}. Cette dilution au 1/10e correspond à la dilution du réactif pratiquée lors des dosages.

La solution est stable environ 1 mois.

Mode opératoire

DOSAGE

Dans une fiole jaugée de 50 mL introduire successivement :

– 5 mL de la solution d'ACVK,

– un volume V de la solution de dioxyde de chlore, en prenant soin de plonger la pointe de la pipette dans la solution d'ACVK,

– compléter à 50 mL avec de l'eau déionisée.

Le volume V sera choisi pour que la concentration dans la fiole de 50 mL soit comprise dans la gamme de 2 à 20 μmol/L.

La densité optique A est mesurée immédiatement à 548 nm.

COURBE D'ÉTALONNAGE

À partir d'une solution de dioxyde de chlore, préparée selon le mode opératoire proposé au § A-13.3.2), et préalablement titrée (par exemple par

(*) Il est indispensable d'utiliser exclusivement pour cette méthode le colorant Alizarine Violet 3R (fournisseur possible : Aldrich = Alizarin Violet R - formule brute $C_{28}H_{20}N_2O_8S_2Na_2$, masse molaire 622,58, CAS Number : 6408-63-5).

spectrométrie UV, § A-13.3.3), on prépare 5 à 6 dilutions dans la gamme de 0 à 20 μmol/L.

Appliquer sur chaque dilution le protocole indiqué au paragraphe précédent et mesurer les absorbances A à 548 nm.

En absence de dioxyde de chlore (point 0 de la courbe d'étalonnage), l'absorbance mesurée est voisine de 0,145 cm^{-1}, noté A_0.

La diminution de l'absorbance (A_0 – A) déterminée sur chaque dilution permet de tracer la courbe d'étalonnage. Cette courbe montre que la diminution d'absorbance est d'environ 0,058 unité par μmole de dioxyde de chlore, pour un trajet optique de 1 cm. Le coefficient d'extinction molaire ε correspondant est de 3000 L. $mol^{-1}.cm^{-1}$.

La limite de détection est voisine de 2 μmol/L (soit 0,135 mg/L).

□ **Résultats**

La concentration en dioxyde de chlore dans l'échantillon est :

$$[ClO_2] = \frac{A_0 - A}{\varepsilon \cdot l} \cdot \frac{\text{Volume de la fiole (50 mL)}}{\text{Volume d'échantillon (mL)}} \cdot 10^3 \text{ mmol/L}$$

A_0 : absorbance à 548 nm obtenue avec un échantillon d'eau déionisée (A_0 = 0,145 pour une cuve de 1 cm).

À : absorbance de l'échantillon.

ε: coefficient d'extinction molaire ε (voisin de 3000 L. $mol^{-1}.cm^{-1}$).

l : trajet optique (en général 1 cm).

Remarques

– La méthode s'applique à des concentrations en dioxyde de chlore comprises entre 2 et 20 μmol/L (0,13 à 1,3 mg/L). Une dilution préalable permet d'analyser les teneurs plus élevées et l'utilisation d'un trajet optique plus long (cuves de 5 à 10 cm) peut permettre le dosage de très faibles concentrations en dioxyde de chlore (voisines de 40 à 50 μg/L)

– la précision de la méthode soufre de la nécessité de réaliser une mesure par différence des absorbances

– la faible solubilité du réactif à l'ACVK nécessite des standardisations rigoureuses. Bien vérifier qu'une dilution au 1/10e de cette solution dans l'eau déionisée possède un pH compris entre 8,1 et 8,5 et une absorbance à 548 nm proche de 0,145 cm^{-1}.

■ Méthode spectrométrique à l'amarante

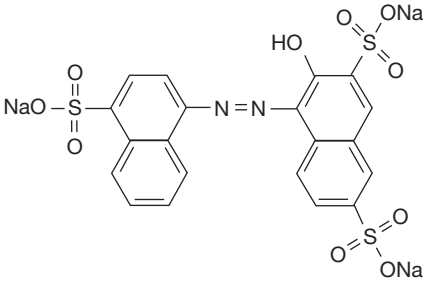
Principe

Le dioxyde de chlore oxyde le colorant Amarante, conduisant à sa décoloration. L'absorbance des solutions est mesurée à 522 nm. La différence de mesure d'absorbance entre un blanc qui ne contient pas de dioxyde de chlore et un échantillon contenant du dioxyde de chlore permet le calcul de la concentration dans l'échantillon.

☐ **Réactifs**

– tampon ammoniaque/chlorure d'ammonium à 0,1 mol/L (pH 9,2)

– solution mère d'amarante (*) à 100 mg/L (0,165 10^{-4} mol/L)



La solution d'amarante est stable pendant environ 3 mois.

À 522 nm, le coefficient d'extinction molaire de l'amarante est de 22 000 L mol-1 cm-1, dans une gamme de pH de 2,9 à 11,5.

Une dilution au 1/5e dans l'eau déionisée de la solution d'amarante à 100 mg/L doit posséder une absorbance à 522 nm proche de 0,73 cm^{-1}. Cette dilution au 1/20e correspond à la dilution du réactif pratiquée lors des dosages et lors de l'étalonnage.

Mode opératoire

DOSAGE

Dans une fiole conique de 250 mL introduire successivement :

– 20 mL d'eau déionisée,

– 10 mL de tampon ammoniaque/chlorure d'ammonium,

– 20 mL de solution d'amarante,

– mélanger puis ajouter 50 mL d'échantillon.

Compléter à 100 mL et agiter. Lire l'absorbance A à 522 nm.

COURBE D'ÉTALONNAGE

À partir d'une solution de dioxyde de chlore, préparée selon le mode opératoire proposé au § A-13.3.2), et préalablement titrée (par exemple par spectrométrie UV, § A-13.3.3), on prépare 5 à 6 dilutions permettant de couvrir la gamme de concentration de 0 à 1,5 mg / L. Préparer les dilutions convenables dans une série de fioles jaugées de 50 mL.

Procéder ensuite conformément au protocole décrit pour le dosage en remplaçant les 50 mL d'échantillon par 50 mL de chacune des solutions étalon. Lire les absorbances à 522 nm pour chaque concentration en ClO_2.

Tracer la courbe d'étalonnage, qui représente la diminution de l'absorbance en fonction de la concentration en dioxyde de chlore.

Le point 0 de cette courbe d'étalonnage doit présenter une absorbance voisine de 0,73 pour un trajet optique de 1 cm (soit A_0).

(*) On utilise le sel trisodique de l'acide 1- (4-sulfo-1-naphthylazo)-2-naphtol-3,6-disulfonique $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$ (fournisseur possible : Aldrich = Amaranth ou synonyme Acid Red 27 ou Azorubin S, masse molaire 604,47, CAS Number : 915-67-3).

Expression des résultats

En utilisant le mode opératoire décrit ci-dessus, la concentration en dioxyde de chlore dans la solution se déduit directement de la courbe d'étalonnage, en reportant pour chaque échantillon sa diminution d'absorbance par rapport au blanc (A_0 – A).

Remarques

– la méthode s'applique à des concentrations en dioxyde de chlore comprises entre 0 et 2 mg/L, avec une limite de détection de l'ordre de 0,02 mg/L.

– la méthode à l'amarante est disponible en kit d'analyse avec spectromètre de terrain, certains fournisseurs proposant des tubes mono-doses de réactif amarante tamponné. Des kits à reconnaissance automatique par codes barres sont également commercialisés.

– une méthode d'analyse par injection en flux (FIA) a été développée pour le dioxyde de chlore avec ce réactif amarante.

■ Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD)

La méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) est basée sur l'oxydation des ions I^- en I_2, suivie de la réaction entre l'iode et la DPD, qui conduit à la formation d'un composé coloré, dosable par titrimétrie. Cette méthode présente une sensibilité élevée, mais sa sélectivité n'est pas toujours satisfaisante en raison de l'interférence d'autres espèces oxydantes chlorées.

En présence de chlore et de dioxyde de chlore, la DPD (diéthyl-*p*-phénylènediamine) est oxydée en donnant une coloration rouge qui est décolorée par l'addition d'une solution de sulfate ferreux ammoniacal.

Pour différencier le dioxyde de chlore des autres formes oxydantes du chlore, le dosage est effectué en deux étapes :

1re étape : en milieu neutre, à *p*H environ 6,4, la réduction du dioxyde s'arrête à la formation de chlorite ; le dosage correspond à 1/5 du dioxyde présent. L'addition préalable de glycine permet d'éliminer l'interférence du chlore libre en le transformant en chlore combiné (acide aminochloroacétique). Dans ces conditions, seul le dioxyde de chlore réagit avec la DPD.

2e étape : en milieu acide (*p*H 2 environ), la réduction du dioxyde est complète et la totalité des chlorites est transformée en chlorures. L'addition d'iodure de potassium permet à la DPD de réagir avec tous les oxydants y compris le chlore combiné. Le dosage est alors effectué en ajustant le *p*H acide à une valeur favorable : 6,4. La détermination des formes combinées du chlore et du chlorite de sodium est effectuée dans les conditions suivantes.

En milieu neutre :

– DPD seule : Cl_2 libre + 1/5 ClO_2 + K (*voir* remarques),
– DPD + ajout de thioacétamide : Cl_2 libre + 1/5 ClO_2 ,
– DPD + iodure de potassium : Cl_2 libre + Cl_2 combiné + 1/5 ClO_2 + K,
– Glycine + DPD seule : 1/5 ClO_2 + K,
– Glycine + DPD + thioacétamide : 1/5 ClO_2 .
– K est le coefficient caracteristique de l'interférence dûe aux ions chlorite au cours du dosage du dioxyde de chlore en absence d'acétamide.

En milieu acide :

– En présence de DPD et d'iodure de potassium :

ClO_2 + Cl_2 libre + Cl_2 combiné + chlorites = ClO_2 + Cl_2 total + chlorites.

Réactifs

D'une façon générale, pour la préparation des réactifs, utiliser de l'eau déionisée sans chlore, ni demande en chlore.

– Solution tampon *p*H 6,5 :

phosphate disodique anhydre (Na_2HPO_4)		24 g
phosphate monopotassique anhydre (KH_2PO_4)		46 g
EDTA Sel disodique dihydraté		0,8 g
chlorure mercurique ($HgCl_2$)		0,02 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de glycine à 10 % :

glycine		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de thioacétamide à 0,25 % :

thioacétamide		0,25 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution acidifiante :

acide sulfurique concentré (*d* = 1,84)		5 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution neutralisante :

hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCo_3$)		5,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Réactif à la DPD (*N,N*-diéthylphényléne -1,4 diamine) :

sulfate de DPD (pentahydraté) ou 1,1 g de sulfate de DPD anhydre		1,5 g
acide sulfurique concentré (*d* = 1,84)		21 mL
EDTA Sel disodique dihydraté		200 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver la solution dans un flacon inactinique 15 jours au plus.

– Iodure de potassium.

– Solution de sulfate ferreux ammoniacal (FAS) à 2,8 mmol/L (0,0028 *N*) :

sulfate F_E^{II} et d'ammonium ($FeSO_4$ $(NH_4)_2SO_4$, 6 H_2O)		1,106 g
acide sulfurique concentré (*d* = 1,84)		1 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Vérifier le titre de la solution selon le protocole décrit pour le chlore (§ A-13.2.4).

Mode opératoire

Détermination du 1/5 du dioxyde de chlore

Dans une fiole conique de 250 mL, verser 100 mL d'eau à analyser, ajouter 5 mL de solution d'EDTA, 2 mL de solution de glycine. Agiter, puis introduire 5 mL de solution tampon et 5 mL de solution à la DPD, agiter sans excès pour homogénéiser. Ajouter enfin 0,5 mL de solution de thioacétamide,

homogénéiser à nouveau et titrer immédiatement avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration.

Soit *G* le nombre de mL de solution utilisés.

Détermination du 1/5 du dioxyde de chlore + K

Verser dans une autre fiole conique 100 mL d'eau à analyser, puis introduire 5 mL de solution d'EDTA et 2 mL de solution de glycine, mélanger. Ajouter ensuite 5 mL de solution tampon et 5 mL de solution à la DPD. Agiter de nouveau sans excès pour homogénéiser. Titrer immédiatement avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration. Soit *H* le nombre de mL de solution utilisés.

Détermination du 1/5 du dioxyde de chlore, du chlore libre + K

Verser dans une autre fiole conique 100 mL d'eau à analyser, 5 mL de solution d'EDTA, puis 5 mL de solution tampon et 5 mL de solution de DPD. Mélanger et titrer immédiatement avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration.

Soit *A* le nombre de mL de solution utilisés.

Détermination du 1/5 du dioxyde de chlore, du chlore libre, du chlore combiné + K

Introduire ensuite dans cette même fiole 0,5 à 1 g d'iodure de potassium, mélanger, attendre deux minutes, ajouter 0,5 mL de solution de thioacétamide, poursuivre le dosage avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration.

Soit *C* le nombre total de mL utilisés (*A* compris).

Détermination du dioxyde de chlore, du chlore libre, du chlore combiné et des chlorites

Verser dans une autre fiole 100 mL d'eau à analyser, 5 mL de solution d'EDTA, 5 mL de solution de DPD à 0,15 % et 0,5 à 1 g d'iodure de potassium ; ajouter ensuite 1 mL de solution acidifiante, mélanger et laisser reposer pendant 2 minutes. Ajouter alors 5 ml de solution neutralisante. Mélanger et titrer avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration.

Soit *D* le nombre de mL de solution utilisés.

□ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL et une solution de FAS à 2,8 mmol/L, les différentes formes oxydantes du chlore exprimées en mg/L de chlore sont obtenues à partir des formules suivantes :

Dioxyde de chlore = 5 *G*

Chlore libre = *A* – *H*

Chlore combiné = *C* – *A*

Chlorites = *T* = *D* – (dioxyde de chlore + chlore libre + chlore combiné)

Chlore total = *C* – *H*

Totalité des oxydants = *D*

Remarques

– *K* est le coefficient caractéristique de l'interférence due aux chlorites au cours du dosage du dioxyde de chlore en l'absence de thioacétamide. Il correspond à la différence obtenue entre les dosages effectués en l'absence ou en présence de glycine ($K = H - G$).

– Pour obtenir la concentration en dioxyde de chlore exprimée en ClO_2, multiplier *G* par 1,9 (masse molaire dioxyde/équivalent chlore, soit 67,44/35,45).

– Pour les contrôles de chlore et de dioxyde de chlore sur le terrain, utiliser des disques colorés et un comparateur.

– L'EDTA en excès permet d'éviter l'interférence de chlorites ; en effet, les ions ferriques non complexés réagissent sur les chlorites en donnant en milieu neutre un composé coloré avec la DPD.

– Le cuivre réagit sur l'iodure de potassium en formant un précipité d'iodure cuivreux avec libération d'iode. Cette interférence est éliminée par l'EDTA jusqu'à une concentration en cuivre de 8 mg/L.

– Pour éviter les risques d'une interférence due au chrome ou au manganèse, préparer un témoin dans les conditions suivantes :

Verser dans une fiole conique 100 mL d'eau à analyser, ajouter 0,5 à 1 g d'iodure de potassium, 0,5 mL d'une solution d'arsénite de sodium à 0,5 % puis 5 mL de solution tampon et 5 mL de solution de DPD. Titrer avec la solution de sulfate ferreux jusqu'à décoloration. Le nombre de mL utilisés correspond à l'interférence, le soustraire des valeurs du chlore libre et du chlore total.

– La quantité de glycine à introduire pour 100 mL d'eau doit être respectée, une concentration trop forte en glycine entraîne une diminution de la coloration.

– L'addition de thioacétamide détruit le chlore combiné et le chlorite présents ; elle évite leur décomposition en chlore ou en dioxyde susceptibles de réagir avec la DPD.

– L'addition de thioacétamide avant la DPD rendrait le dosage impossible par élimination du chlore et du dioxyde avant leur réaction sur la DPD.

– Pour éviter toute possibilité de souillure résiduelle d'iodure provenant d'une analyse précédente, réserver autant que possible les fioles coniques les unes à la mesure du chlore libre, d'autres à celle du chlore total.

■ Méthode ampérométrique

Principe

Le dosage ampérométrique est très utile pour analyser le dioxyde de chlore en présence de chlore et de chlorite et même de chloramines. Le principe de ce dosage constitue une extension de celui décrit pour le chlore (§ A-13.1.4).

La détermination ampérométrique de la teneur en dioxyde de chlore nécessite de pratiquer 4 dosages séparés pour le distinguer des ions chlorite et chlorate ou d'autres entités chlorées (Cl_2, HOCl, ClO^-).

Pour les réactions mises en jeu lors de ces dosages, on pourra se référer aux équations décrites dans la méthode iodométrique de dosage du dioxyde de chlore en présences de chlore et d'ions chlorite (§ A-13.3.3).

– **Premier dosage** : dosage du chlore libre (Cl_2, HOCl et ClO^-)

L'addition d'une quantité suffisante d'hydroxyde de sodium pour obtenir un pH de 12, permet de convertir le dioxyde de chlore en ions chlorite et chlorate (dismutation). Après neutralisation à pH 7, on titre uniquement le chlore.

– **Deuxième dosage** : dosage chlore libre et de 1/5 du dioxyde de chlore.

Pour ce dosage les ions iodure sont ajoutés directement sur l'échantillon tamponné à pH 7.

– **Troisième dosage** : dosage du chlore libre, du dioxyde de chlore et des ions chlorites.

L'ajout d'une quantité d'acide sulfurique suffisante pour porter le pH à 2, permet à toutes les entités (chlore libre, dioxyde de chlore, chlorites) de libérer l'iode des ions iodure.

☐ **Réactifs**

Voir réactifs utilisés pour le dosage du chlore par ampérométrie (§ A-13.1.4).

Préparer également :

– Solution d'hydroxyde de sodium à 6 mol/L

– Solution d'acide sulfurique à 3 mol/L : on l'obtient en diluant 6 fois l'acide sulfurique concentré (d = 1,84).

☐ **Matériel**

Voir dosage du chlore par ampérométrie (§ A-13.2.4).

Mode opératoire

Pour obtenir des résultats satisfaisants, il est important de bien respecter toutes les conditions analytiques préconisées : pH, température, temps de réaction.

Expression des résultats

Selon les équations présentées précédemment, les volumes A, B et C de solution de thiosulfate de sodium de normalité N employés pour les titrations dans les différentes conditions analytiques proposées correspondent respectivement :

– Pour A à $Cl_2 + 2\ ClO_2$

– Pour B à $Cl_2 + 2/5\ ClO_2 + ½\ ClO_2^-$

– Pour C à Cl_2

En conséquence :

– Cl_2 correspond donc à C

– ClO_2 correspond donc à ½ (A – C)

– ClO_2^- correspond donc à 1/5 (10B – A – 9C)

Pour un volume X de la solution de thiosulfate de sodium de normalité N et un volume V d'échantillon utilisé, la concentration de l'entité dosée serait :

$$[\text{Concentration}]_{\text{mol/L}} = \frac{X \,.\, N}{V}$$

$$\text{Soit : } [\text{Concentration}]_{\text{mg/L}} = \frac{X \,.\, N}{V} \,.\, \text{Masse Molaire} \,.\, 1000$$

Pour N = 0,1 et V = 10 mL, cette expression devient :

Concentration (mg/L) = 10. X. Masse molaire

D'où :

$[ClO_2]_{mg/L} = 675 \times [½ (A – C)]$

$[Cl_2]_{mg/L} = 355 \times C$

$[ClO_2^-]_{mg/L} = 675 \times [1/5 (10B – A – 9C)]$

13.3.5 Demande en dioxyde de chlore

L'objectif de cette détermination, ainsi que son principe et son mode opératoire sont en tous points similaires à ceux décrits pour la demande en chlore (cf. § A-13.1.5).

Il suffit de remplacer la solution de chlore par une solution de dioxyde de chlore. (cf. préparation au § A-13.3.2).

13.4. Ozone

13.4.1 Chimie de l'ozone

Produit sur les sites d'utilisation par décharge électrique dans l'air ou dans l'oxygène, l'ozone (O_3) est un gaz soluble dans l'eau. Cette solubilité repose sur les concepts d'équilibre entre une phase aqueuse et une phase gazeuse et elle est fonction de la température (elle augmente quand la température diminue) et du pH (elle diminue quand le pH augmente).

En solution aqueuse l'ozone n'est pas stable et sa décomposition fait intervenir des réactions complexes initiées par différents solutés présents dans les eaux (minéraux ou organiques) ou formés sous l'action de l'ozone. Ainsi, il peut se décomposer en entités radicalaires (comme les radicaux hydroxyle $OH^•$), ce mécanisme étant initié par les ions hydroxyde OH^-, par le fer ferreux ou encore par certaines molécules organiques. Cette décomposition est initiée par les ions hydroxyde OH^- :

$$O_3 + OH^- \rightarrow HO_2^• + O_2^{•-}$$

Les radicaux hydroperoxyde ($HO_2^•$) et les ions radicaux superoxyde ($O_2^{•-}$) formés lors de cette étape d'initiation servent de propagateur à cette réaction radicalaire en chaîne en réagissant à leur tour sur l'ozone :

$$O_3 + HO_2^• \rightarrow OH^• + 2\ O_2$$

$$O_3 + O_2^{•-} + H^+ \rightarrow OH^• + 2\ O_2$$

La présence de composés minéraux ou organiques réagissant avec l'ozone, contribue également à cette décomposition de l'ozone. Mais la présence de certains inhibiteurs stabilisent l'ozone dans l'eau en piégeant les radicaux hydroxyle $OH^•$. C'est le cas en particulier des ions hydrogénocarbonate et carbonate ou de quelques composés organiques.

Doté d'un potentiel d'oxydo-réduction élevé (E^0 = 2,07 volt), l'ozone possède une très forte réactivité avec les composés présents dans les eaux naturelles. Il peut réagir rapidement sur ces composés :

– par une action directe de l'ozone moléculaire,

– par une action indirecte faisant intervenir des entités radicalaires, comme le radical hydroxyle $OH^{\bullet}$, agent oxydant encore plus puissant que l'ozone (E^0 = 2,80 volt).

Ces réactions conduisent à une consommation rapide de l'ozone en solution et à la formation de nombreux sous-produits d'ozonation (molécules oxygénées de type acide carboxylique, aldéhyde et cétone). En présence de molécules organiques (par exemple les substances humiques), la réactivité de l'ozone avec les ions bromures peut conduire à la formation d'ions bromate (BrO_3^-).

L'ozone est aussi le désinfectant le plus puissant utilisé en traitement des eaux, avec une efficacité indépendante du pH. Par contre sa faible stabilité ne font pas de l'ozone un désinfectant rémanent.

Dans le domaine des eaux naturelles, l'ozone est principalement utilisé dans les filières de production d'eau potable, en préoxydation, en oxydation intermédiaire, en post-ozonation et en désinfection finale. Il s'emploie encore pour la désinfection des eaux de piscines et dans certains circuits industriels pour réduire les biomasses fixées.

13.4.2 Dosage de l'ozone dans l'air ozoné

L'ozone est produit en phase gazeuse et sa mise en œuvre fait appel à la dispersion de ce gaz dans l'eau. Le dosage de l'ozone dans l'air ozoné (ou dans l'oxygène ozoné) constitue donc un paramètre fondamental pour le calcul des flux gazeux nécessaires à l'application des taux de traitement souhaités.

■ Méthode iodométrique

Les différentes méthodes physiques (absorption dans le spectre ultraviolet ou l'infrarouge) adaptées pour les mesures de faibles teneurs en ozone ne permettent pas de doser correctement des concentrations comprises entre 0 et 100 mg/L. La méthode iodométrique reste la méthode de choix.

Étant donné la labilité de l'ozone, la mesure doit être pratiquée immédiatement après le prélèvement. Celui-ci sera effectué en limitant au maximum le contact avec l'air.

□ **Principe**

L'ozone de l'air ozoné est determiné par barbotage de l'air ozoné dans une solution neutre ou alcaline d'iodure. Après acidification, l'iode libéré est titré par le thiosulfate de sodium. À la mesure de la concentration en ozone dans l'air est associée la mesure du débit gazeux. Cette concentration est mesurée dans la phase gazeuse sortant de l'ozoneur.

L'ozone oxyde les ions iodure en iode et en iodate :

$$O_3 + H_2O + 2\ I^- \rightarrow I_2 + O_2 + 2\ OH^- \qquad (1)$$

$$3\ O_3 + I^- \rightarrow IO_3^- + 3\ O_2 \qquad (2)$$

Les ions iodate sont réduits en iode par ajout d'acide sulfurique :

$$IO_3^- + 5\ I^- + 6\ H^+ \rightarrow 3\ I_2 + 3\ H_2O \qquad (3)$$

L'équation globale [(2) + (3)] correspond alors à :

$$O_3 + 2\ I^- + 2\ H^+ \rightarrow I_2 + O_2 + H_2O \qquad (4)$$

Le dosage de l'iode formé par les 2 réactions (1) et (4) est réalisé par une solution titrée de thiosulfate de sodium :

$$I_2 + 2\ S_2O_3^{2-} \rightarrow 2\ I^- + S_4O_6^{2-}$$

☐ **Matériel spécial**

– 2 barboteurs Durand de 500 mL.

– 1 robinet à 3 voies.

– Compteur à gaz (au cours de son utilisation, s'assurer que le compteur est bien horizontal et que son niveau d'eau est correct).

☐ **Réactifs**

– Solution d'iodure de potassium (exempt d'iodate) à 20 g/L.

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L ou autre indicateur d'iode.

– Solution d'acide sulfurique 2 *N*.

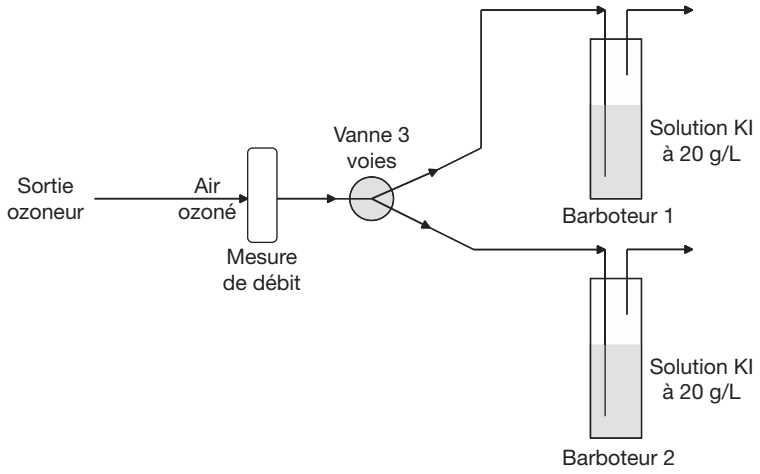
– Solution d'iode 0,1 *N*.

– Solution de thiosulfate de sodium 0,1 *N* (0,1 mol/L).

Vérifier le titre de cette solution au moyen d'une solution étalon d'iode 0,1 *N*. 1 mL de cette solution correspond à 2,4 mg d'ozone.

☐ **Mode opératoire**

L'ozone est piégé par barbotage de l'air ozoné (ou oxygène ozoné) sortant de l'ozoneur dans une solution d'iodure de potassium. Le montage suivant peut être utilisé.



Chaque barboteur contient 200 mL de la solution d'iodure de potassium à 20 g/L.

Régler le débit d'air ozoné en plaçant la vanne 3 sur le barboteur 1. Pour de meilleurs résultats, il est conseillé d'avoir un bullage de gaz relativement faible (< 1 L /min). Lorsque le débit de gaz est stable, basculer la vanne 3 voies pour admettre l'air ozoné dans le barboteur 2. Laisser débiter l'air ozoné dans ce barboteur pendant un temps t (généralement 10 à 15 minutes). Noter le débit correspondant ($Q_{air\ ozoné}$).

Récupérer le barboteur 2, y ajouter 10 mL d'acide sulfurique 2 N. Titrer l'iode libéré par la solution de thiosulfate de sodium à 0,1 mol/L en utilisant l'indicateur d'iode en fin de dosage. Soit $V_{thiosufate}$ le volume (en mL) nécessaire pour le dosage.

Expression des résultats

La quantité d'ozone mesurée dans le gaz, exprimée en mol/h, est la suivante :

$$\text{Quantité d'ozone (mol/h)} = \frac{V_{thiosulfate} \cdot [\text{Thiosulfate}]}{2\,t} \cdot 10^{-3}$$

$V_{thiosulfate}$ étant le volume (en mL) de thiosulfate de concentration molaire [thiosulfate] nécessaire pour le dosage de l'iode libéré dans le barboteur 2.

t est le temps de barbotage (en heure).

Exprimée en mg/h, cette quantité d'ozone mesurée est de :

$$\text{Quantité d'ozone (mg/h)} = \frac{48 \cdot V_{thiosulfate} \cdot [\text{Thiosulfate}]}{2\,t}$$

Connaissant le débit d'air ozoné admis dans le barboteur ($Q_{air\ ozoné}$ en L/h), ou le volume de gaz ozoné (en litres), qui est entré dans le barboteur pendant le temps t ($V = Q_{air\ ozoné} \cdot t$), il est possible de calculer la concentration en ozone dans le gaz (en mg d'ozone par litre d'air ozoné) :

$$[\text{Ozone}]_{(\text{mg d'ozone/L d'air ozoné})} = \frac{48 \cdot V_{thiosulfate} \cdot [\text{Thiosulfate}]}{2\,t \cdot Q_{air\ ozoné}}$$

$$= \frac{48 \cdot V_{thiosulfate} \cdot [\text{Thiosulfate}]}{2\,V}$$

Le volume de gaz ozoné V doit être corrigé en utilisant la loi des gaz parfaits, pour ramener ce volume aux conditions normales de température et de pression (0 °C et 760 mm Hg).

Remarques

– pour plus de précisions, on pourra utiliser 2 barboteurs en série pour cette mesure, chacun contenant de l'iodure de potassium. Dans ce cas, le contenu des 2 barboteurs sera mélangé avant l'ajout d'acide sulfurique et le dosage par le thiosulfate.

– pour palier tout risque de rejet d'ozone dans la salle de mesure, il est de toute façon conseillé de placer systématiquement 2 barboteurs en série ou de connecter les sorties des réacteurs à un destructeur d'ozone.

– la hauteur de la solution d'iodure de potassium dans le barboteur doit être suffisante pour assurer le piégeage de l'ozone. Adapter en conséquence la taille du barboteur ou le volume d'iodure de potassium.

– le temps de barbotage et la concentration molaire du thiosulfate pourront être adaptés pour de faibles productions d'ozone.

■ Dosage par mesure de l'absorbance UV

La concentration en ozone dans la phase gazeuse peut être réalisée par spectrométrie UV. L'ozone absorbe en effet à 254 nm et cette propriété est utilisée en particulier sur les analyseurs en ligne, par exemple sur les sites de production d'eau potable, l'absorbance mesurée (A) augmentant avec la concentration en ozone C (loi de Beer-Lambert : $A = \varepsilon.l.C$).

La mesure est le plus souvent réalisée sur une cellule à circulation, balayée par le courant de gaz ozoné (air ou oxygène).

La mesure peut s'effectuer par rapport à un étalonnage par la méthode iodométrique décrite ci-dessus. Une autre méthode consiste à utiliser le coefficient d'extinction molaire fourni par la bibliographie pour calculer directement la concentration à partir de l'absorbance. Ce coefficient d'extinction molaire ε est voisin de 3 000 L mol^{-1} cm^{-1}.

La spectrométrie UV permet de déterminer des concentrations variant entre 10 mg/L et 20 g/L.

13.4.3 Dosage de l'ozone dans l'eau

La solubilité de l'ozone dans l'eau pure (ou concentration en ozone à saturation) dépend principalement de la température (elle augmente quand la température diminue). Mais le pH influence aussi cette solubilité, car il joue un rôle sur la vitesse de décomposition de l'ozone et une élévation du pH (surtout au-dessus de pH 8) se traduit par une diminution de la concentration en ozone à l'équilibre.

À température ambiante (15 à 20 °C), une solution d'ozone pourra ainsi contenir entre 10 et 20 mg/L d'ozone. En refroidissant le flacon dans un bain de glace on pourra obtenir un transfert plus important avec une concentration à l'équilibre qui se situera entre 30 et 40 mg/L d'ozone.

Pour déterminer cette teneur en ozone dans l'eau, plusieurs techniques sont théoriquement applicables. Il s'agit d'une part de la méthode de titrage volumétrique par iodométrie déjà explicitée pour le dosage de l'ozone en phase gazeuse, et d'autre part de deux méthodes colorimétriques utilisant respectivement les molécules d'indigo trisulfonate et de N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD). Mais la mise en œuvre d'un dosage de l'ozone dans l'eau suppose de prendre en compte la faible stabilité de ce

gaz dans l'eau. En fonction des caractéristiques physicochimiques de l'eau, le temps de demi-vie de l'ozone dans l'eau varie en effet entre quelques secondes à quelques minutes. D'autre part, la réaction d'ozonation peut se poursuivre après le prélèvement. Il est donc important de privilégier le mode de dosage qui piège rapidement l'ozone dissous dans l'échantillon à doser.

Bien que l'ozone absorbe dans l'UV (à 254 nm), cette méthode n'est pas utilisable pour le dosage de l'ozone dans les eaux naturelles, puisque le coefficient d'extinction molaire trop faible limite son application aux teneurs supérieures à 0,2 mg/L et que de nombreux composés présents dans les eaux naturelles (matière organique naturelle) absorbent à cette même longueur d'onde.

■ Méthode iodométrique

Cette méthode n'est précise que pour des concentrations supérieures à 1 mg/L et n'est donc pas applicable pour la détermination de l'ozone résiduel. Elle n'est pas spécifique de l'ozone et prend en compte la majorité des oxydants présents (chlore en particulier).

Principe

En milieu acide, l'ozone oxyde les ions iodure en iode (voir réactions § A-13.4.2). L'iode libéré est dosé par une solution réductrice titrée (arsénite de potassium ou thiosulfate de sodium) en présence d'un indicateur d'iode :

$$I_2 + AsO_2^- + 2\ H_2O \rightarrow 2\ I^- + AsO_4^{3-} + 4\ H^+$$

$$I_2 + 2\ S_2O_3^{2-} \rightarrow 2\ I^- + S_4O_6^{2-}$$

☐ Matériel

Microburette de 5 mL

☐ Réactifs

– solution d'iodure de potassium à 100 g/L.

– solution d'arsénite de sodium 0,1 N (0,05 mol/L) :

Oxyde d'arsenic^{III} (As_2O_3)		4,95 g
Hydrgénocarbonate de potassium		15 g
Eau déionisée	q.s.p.	1000 mL

1 mL de cette solution correspond à 2,4 mg d'ozone.

– indicateur d'iode (thiodène, solution d'amidon à 10 g/L…).

Mode opératoire

Dans une fiole conique de 1 L introduire 1000 mL d'échantillon. Ajouter 2 mL d'iodure de potassium à 100 g/L et l'indicateur d'iode. Mettre sous agitation et titrer rapidement avec la solution d'arsénite de sodium 0,1 N jusqu'à décoloration complète.

Expression des résultats

Pour un échantillon de 1 L, si V est le volume (en mL) de la solution d'arsénite de sodium utilisé pour le dosage, la concentration en ozone de la solution (en mg/L) correspond à 2,4.V.

Méthode spectrométrique à l'indigo trisulfonate

Cette méthode simple, précise et rapide est sans doute la méthode la plus adaptée pour analyser sélectivement l'ozone dissous, la plupart des autres méthodes (DPD par exemple et bien sûr iodométrie) mesurant la totalité des oxydants présents.

La limite de détection de cette méthode est en pratique de l'ordre de 10 µg/L d'ozone et la mesure peut s'effectuer jusqu'à des concentrations en ozone dans l'eau d'environ 20 mg/L.

Principe

En milieu acide, l'attaque de l'ozone sur la molécule d'indigo trisulfonate provoque sa décoloration. La dégradation de l'indigo trisulfonate procède par une attaque sélective et rapide de l'ozone sur la double liaison C = C de cette molécule et conduit à une diminution de son absorbance à 600 nm, cette diminution d'absorbance variant de manière linéaire avec la quantité d'ozone.

La stoechiométrie de cette réaction est de 1 mole d'ozone par mole d'indigo trisulfonate.

Matériel spécial

– Spectromètre.

Réactifs

– Solution mère d'indigo trisulfonate à 10^{-3} mol/L :

indigo trisulfonate de potassium ($C_{16}H_7N_2O_{11}S_3K_3$)		616,7 mg
acide phosphorique H_3PO_2 à 85 %		1 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Conservée à l'obscurité, cette solution est stable plusieurs mois.

– Solution fille d'indigo trisulfonate à 10^{-4} mol/L :

solution mère d'indigo à 10^{-3} mol/L		100 mL
dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4)		10 g
acide phosphorique 85 %		7 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Cette solution est à renouveler toutes les semaines.

Mode opératoire

Dans une fiole jaugée de 100 mL introduire 20 mL de la solution d'indigo trisulfonate à 10^{-4} mol/L. Ajouter un volume V_E d'échantillon. Compléter à 100 mL avec de l'eau déionisée.

Réaliser cette réaction immédiatement après le prélèvement pour limiter les pertes liées à la décomposition de l'ozone dans l'eau. Prendre aussi toute précaution pour limiter les pertes d'ozone par dégazage. Il est donc conseillé de préparer la fiole jaugée contenant la solution d'indigo et d'y ajouter l'échantillon dès son prélèvement.

Préparer un blanc de réactif dans les mêmes conditions, en remplaçant l'échantillon par de l'eau déionisée.

Laisser réagir 10 minutes à l'obscurité. Mesurer les absorbances à 600 nm des 2 solutions dans un délai maximal de 4 heures. Calculer la diminution

d'absorbance provoquée par la présence d'ozone dans l'échantillon, soit $\Delta_{absorbance}$ (avec $\Delta_{absorbance}$ = absorbance du blanc de réactif – absorbance de l'échantillon).

Pour les solutions peu concentrées en ozone (0,05 à 0,5 mg/L), on utilisera de préférence des cuves d'un trajet optique de 5 à 10 cm.

Expression des résultats

La molécule d'indigo trisulfonate présente un coefficient d'absorption molaire élevé ($2\,10^4$ L mol^{-1} cm^{-1} à 600 nm). La dégradation de l'indigo trisulfonate par l'ozone correspond à une stoechiométrie de 1 mol/mol soit à une diminution d'absorbance de $2\,10^4$ cm^{-1} par mol/L d'ozone, soit encore à une diminution d'absorbance de 0,42 cm^{-1} par mg/L d'ozone.

La concentration en ozone dissous dans l'échantillon, exprimée en mg/L d'ozone, se calcule selon la relation suivante :

$$[O_3] = \frac{V_T \cdot \Delta_{absorbance}}{0{,}42 \cdot V_E \cdot l}$$

Avec :

V_T : volume total de la fiole jaugée (ici 100 mL).

$\Delta_{absorbance}$ = absorbance du blanc de réactif – absorbance de l'échantillon.

V_E : volume d'échantillon (en mL).

l : trajet optique de la cuve de mesure (en cm).

Remarques

– Le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes organiques décolorent l'indigo très lentement. Ils n'interfèrent pas si la mesure d'aborbance est faite moins de 4 h après l'ajout des réactifs.

– Les sels de manganèse[II] oxydés par l'ozone décolorent le réactif. Cette interférence est éliminée en effectuant un essai à blanc avec l'échantillon dans lequel l'ozone a été détruit sélectivement par une solution de glycine à 7 g pour 100 mL. Sans cette correction, 0,1 mg de manganèse entraîne une erreur de 0,08 mg/L d'ozone.

– Le chlore interfère mais il peut être masqué par de l'acide malonique, 1 mL d'une solution à 5 % est ajouté dans le témoin et l'essai juste après l'introduction de la solution d'indigo. La mesure est effectuée très rapidement, dans un délai inférieur à 1 heure. Le brome et ses dérivés ne sont masqués que partiellement par l'acide malonique, 1 mol de HOBr correspond à 0,4 mol d'ozone.

■ Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine

Suivre le protocole décrit pour le dosage du chlore total par la méthode spectrométrique ou titrimétrique à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (§ A-13.2.4).

De nombreux composés interfèrent avec l'ozone lors de cette mesure. Ce sont d'une part les autres oxydants éventuellement présents (chlore, chloramines,…) et d'autre part le dioxyde de manganèse. Il est possible de réduire certaines de ces interférences, mais la précision de la méthode en est alors affectée.

13.4.4 Demande en ozone

L'ozone étant très réactif avec la matière organique et minérale contenue dans l'eau, il est important de déterminer le taux d'ozone à appliquer pour obtenir une teneur résiduelle fixée après un temps de contact déterminé. Ainsi, lors du traitement pour la production d'eau potable, l'objectif fixé pour atteindre une bonne efficacité désinfectante est d'appliquer un taux d'ozone suffisant pour obtenir une teneur résiduelle en ozone de 0,4 mg/L après un temps de contact de 4 minutes.

La détermination de la demande en ozone peut se pratiquer par 2 méthodes :

– une méthode « batch » pour laquelle une solution d'ozone est ajoutée dans l'échantillon. C'est la méthode la plus simple, et la plus couramment employée,

– une méthode semi-batch, qui implique l'addition continue d'un courant gazeux d'ozone dans l'échantillon. Dans ce cas, le résultat est fonction des caractéristiques du réacteur et du transfert de l'ozone dans l'eau.

Dans la méthode « batch » que nous avons choisi de développer ici, le protocole utilisé est similaire à celui mis en œuvre dans le cas de la demande en chlore (§ A-13.2.5). La difficulté majeure dans ce cas est liée à l'obtention et à la conservation (pendant la durée de l'essai) d'une solution mère d'ozone de titre connu.

■ Principe

Dans une série de flacons contenant un même volume d'eau à analyser, on ajoute des concentrations croissantes d'ozone. La demande en ozone de l'eau est donnée par le premier flacon dans lequel on décèle la présence d'ozone résiduel après un temps de contact déterminé.

Les dosages d'ozone sont réalisés par la méthode spectrométrique à l'indigo trisulfonate (cf. § A-13.4.3).

□ **Réactifs**

– eau sans demande en ozone : on utilisera le plus souvent une eau ultra-pure,

– réactifs pour le dosage spectrométrique de l'ozone résiduel par la méthode à l'indigo trisulfonate (cf. § A-13.4.3),

– solution mère d'ozone.

Dans un flacon de 1 L, introduire environ 800 mL d'eau ultra-pure. Mettre le flacon sous agitation puis le relier à la sortie de l'ozoneur pour faire barboter l'air ozoné (ou l'oxygène ozoné) dans l'eau pendant environ 30 minutes.

A température ambiante (15 à 20 °C), cette solution d'ozone contiendra environ 10 à 20 mg/L d'ozone. En maintenant le flacon dans un bain de glace pendant toute la durée du transfert, on pourra obtenir une concentration à l'équilibre plus importante (30 à 40 mg/L). Doser cette solution par la méthode à l'indigo trisulfonate.

Fermer soigneusement le flacon, le conserver au réfrigérateur et prendre toutes les précautions utiles pour prévenir un dégazage de la solution pendant la durée de l'essai.

□ **Matériel**

– générateur d'ozone,

– spectromètre pour le dosage de l'ozone résiduel (longueur d'onde de mesure = 600 nm).

Mode opératoire

Préparer une série de 6 à 10 flacons (*) soigneusement nettoyés (sans demande en ozone). Introduire dans chaque flacon 250 mL d'eau à analyser, puis des volumes croissants (**) de la solution d'ozone de manière à obtenir une gamme de concentration en ozone appliqué compatible avec la qualité de l'eau.

Boucher soigneusement les flacons. Les agiter et les placer à l'abri de la lumière.

Au bout du temps de contact défini, doser immédiatement l'ozone résiduel dans chacun des flacons.

Résultats

Tracer la courbe représentant la teneur résiduelle en ozone en fonction de la concentration en ozone introduite (cf. schéma § A-13.2.5). En déduire la demande en ozone.

Remarques

– le flaconnage utilisé pourra être nettoyé en le laissant en contact pendant quelques minutes avec une eau ozonée. Ce lavage sera suivi d'un rinçage à l'eau ultra-pure.

– pour contrôler l'absence de décomposition notable de l'ozone dans les conditions de l'essai, il est souhaitable de réaliser un essai à blanc, en ozonant à différents taux d'ozone de l'eau ultra-pure tamponnée au pH de l'eau.

13.5. Brome et iode

13.5.1 Formes chimiques et utilisations

Le brome et l'iode connaissent une chimie similaire à celle du chlore : dismutation en acide hypohalogéneux (HOBr ou HOI) lors de leur dissolution dans l'eau et dissociation en fonction du pH de l'acide hypohalogéneux en ion halogénite (BrO^- ou IO^-). Cette dissociation intervient pour des pH beaucoup plus élevés qu'avec le chlore. Ces deux entités subsistent donc dans l'eau à l'état d'acide hypohalogéneux (et même à l'état moléculaire) pour des pH élevés.

En présence d'azote ammoniacal, le brome conduit comme le chlore à des amines halogénées, mais les bromamines minérales sont moins stables que les chloramines et se décomposent rapidement dans l'eau. Quant à l'iode, il ne réagit pas avec l'ammoniaque, ce qui permet de conserver ses propriétés désinfectantes dans des eaux chargées en ammoniaque.

En solution aqueuse, ces 2 oxydants présentent des propriétés oxydantes et désinfectantes plus faibles que celles du chlore. Mais les particularités

(*) le volume des flacons sera adapté au volume d'échantillon afin que la quantité d'air dans le flacon reste très faible. On pourra par exemple utiliser des fioles jaugées.
(**) les volumes introduits devront être suffisamment faibles pour ne pas augmenter le volume de l'échantillon traité de plus de 2 %. Si cela s'avère impossible, il y aura lieu de corriger le taux d'ozone appliqué pour tenir compte de cette dilution.

présentées ci-dessus leur confèrent un intérêt marqué par rapport au chlore pour la désinfection d'eaux de pH élevé, car les formes moléculaires (acides hypohalogéneux) sont plus désinfectantes que les formes ionisées (ions halogénites) ou encore pour les eaux de piscines, dans lesquelles la formation de trichloramine, fortement irritante, limite l'usage du chlore.

Le brome connaît également une application dans le traitement des circuits de refroidissement et des tours aéroréfrigérantes pour son action bactéricide sur les microorganismes fixés sur les parois des canalisations (biofilms).

13.5.2 Dosage du brome ou de l'iode résiduel par la méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD)

■ Principe

Cette méthode est une extension de la méthode décrite pour le chlore (cf. § A-13.2.4 Dosage du chlore résiduel total, libre ou combiné : Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine – dosage titrimétrique ou dosage spectrométrique).

■ Mode opératoire et expression des résultats

Se reporter au § A-13.2.4 (Dosage du chlore résiduel total, libre ou combiné : Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine).

Comme dans le cas du chlore, les méthodes de dosage mises en œuvre utilisent le pouvoir oxydant des différentes formes des halogènes et permettent soit une quantification globale du brome ou de l'iode (halogène total), soit une quantification individuelle de chaque espèce. Dans tous les cas, le résultat est exprimé en concentration équivalent d'halogène (brome ou iode).

13.5.3 Dosage du brome ou de l'iode résiduel par ampérométrie

Se reporter au § A-13.2.4 (Dosage du chlore résiduel total, libre ou combiné : Méthode ampérométrique).

13.6. Peroxyde d'hydrogène

13.6.1 Formes chimiques et utilisations

De formule H_2O_2, le peroxyde d'hydrogène (communément nommé eau oxygénée) est un composé métastable, qui en solution concentrée, se décompose facilement avec libération d'oxygène selon une réaction exothermique :

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2 + 98{,}02 \text{ kJ}$$

Cette décomposition est catalysée par de nombreux composés en solution (ions hydroxyde, métaux lourds), ainsi que par certaines particules en suspension ou matériau poreux. En solution diluée, en en milieu pur (eau

ultra-pure), la décomposition est lente, ce qui permet la conservation des solutions dans des flacons parfaitement lisses.

Le peroxyde d'hydrogène possède un fort pouvoir oxydo-réducteur (caractère amphotère d'oxydo-réduction) et un caractère acide faible (pKa = 11,6).

Dans les eaux naturelles, ces caractéristiques lui confèrent la capacité à réagir sur la matrice minérale ou organique, selon un mécanisme d'action direct (par la molécule de peroxyde d'hydrogène) ou indirect (en faisant intervenir des radicaux hydroxyles $OH^{\bullet}$ très réactifs et peu sélectifs, facilement initiés par différents procédés, dont la catalyse par des ions métalliques).

En désinfection, son action s'opère non seulement par oxydation des groupes thiols des protéines des bactéries, mais aussi par l'oxydation des acides gras insaturés de la membrane de certaines bactéries, ou encore par attaque directe sur les cellules. Cependant l'efficacité bactéricide du peroxyde d'hydrogène sur de nombreuses bactéries est généralement bien moindre que celui de l'ozone ou du chlore. De ce fait il reste peu employé en traitement des eaux et son domaine d'application se limite le plus souvent aux circuits de refroidissement industriels, où son emploi permet de limiter les proliférations d'algues et de bactéries.

13.6.2 Analyse des solutions concentrées

■ Méthode iodométrique

Principe

La méthode iodométrique est basée sur l'oxydation des ions iodure par le peroxyde d'hydrogène en milieu acide, la réaction étant catalysée par le molybdate d'ammonium :

$$H_2O_2 + 2\ I^- + 2\ H^+ \rightarrow I_2 + 2\ H_2O$$

L'iode libéré est titré en retour par une solution titrée de thiosulfate de sodium :

$$I_2 + 2\ S_2O_3^{2-} \rightarrow 2\ I^- + S_4O_6^{2-}$$

☐ **Réactifs**

- acide sulfurique N.
- solution de molybdate d'ammonium $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ à 15 g/L.
- solution d'iodure de potassium à 0,1 mol/L.
- solution titrée de thiosulfate de sodium 0,1 N.
- indicateur d'iode (thiodène, empois d'amidon…).

Mode opératoire

Dans une fiole conique de 250 mL, ajouter :

- environ 20 mL d'eau déionisée,
- 1 mL d'acide sulfurique N,
- 10 mL de la solution de KI à 0,1 mol/L,

– un volume V_E (mL) d'échantillon à doser, généralement compris entre 1 mL et 200 mL,

– environ 0,5 mL de la solution de molybdate d'ammonium à 15 g/L.

Titrer par la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N jusqu'à décoloration, en ajoutant l'indicateur d'iode en fin de décoloration. Soit V le volume (en mL) de thiosulfate nécessaire.

Expression des résultats

Lorsque l'on utilise la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N préconisée ci-dessus, la concentration en peroxyde d'hydrogène se calcule comme suit :

$$[H_2O_2]_{mol/L} = 0{,}1\,\frac{V}{V_E}$$

$$[H_2O_2]_{g/L} = 3{,}4\,\frac{V}{V_E}$$

Avec :

V = volume en mL de la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N utilisé pour le titrage,

V_E = volume d'échantillon à doser.

Remarques

– cette méthode est le plus souvent utilisée pour des solutions concentrées (> 1 mol/L).

– pour des concentrations plus faibles (jusqu'à 1 mmol/L), elle reste applicable, mais avec des volumes d'échantillon plus élevés (100 à 500 mL), où en utilisant une solution titrée de thiosulfate de sodium 0,01 N.

■ Méthode manganimétrique

Principe

Le permanganate de potassium est réduit par le peroxyde d'hydrogène :

$$MnO_4^- + 8\,H^+ + 5\,e^- \rightarrow Mn^{2+} + 4\,H_2O$$

$$H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^-$$

$$\text{Soit : } 5\,H_2O_2 + 2\,MnO_4^- + 6\,H^+ \rightarrow 5\,O_2 + 2\,Mn^{2+} + 8\,H_2O$$

Cette réaction peut faire l'objet d'un dosage volumétrique simple, le point d'équivalence correspondant à la disparition de la coloration violette du permanganate de potassium.

□ Réactifs

– acide sulfurique N,

– solution titrée de permanganate de potassium (KMnO4) 0,1 N (soit 0,02 mol/L).

Mode opératoire

Dans une fiole conique de 250 mL, ajouter :

– environ 20 mL d'eau déionisée,

– 1 mL d'acide sulfurique N,

– un volume V_E (mL) d'échantillon à doser, généralement compris entre 1 mL et 200 mL).

Titrer avec la solution de permanganate de potassium 0,1 N jusqu'à décoloration. Soit V_{KMnO4} le volume de permanganate de potassium 0,1 N utilisé.

Expression des résultats

La concentration molaire en peroxyde d'hydrogène se calcule en utilisant la concentration molaire en permanganate de potassium (ici 0,02 mol/L), grâce à la relation suivante :

$$[H_2O_2] = \frac{5[KMnO_4] \cdot V_{KMnO_4}}{2\ V_E}$$

Remarque

Cette méthode est utilisable pour des solutions concentrées (> 1 mol/L). Pour des concentrations plus faibles (jusqu'à 1 mmol/L), elle reste applicable en utilisant des volumes d'échantillon plus élevés (100 à 500 mL) mais avec une précision moins bonne, car la coloration rose du permanganate de potassium est peu perceptible en fin de virage en milieu dilué. Pour les faibles concentrations, il est également possible d'utiliser une solution titrée de permanganate de potassium 0,01 N.

13.6.3 Dosage du peroxyde d'hydrogène résiduel par la méthode au sel de titane (méthode d'EISENBERG)

■ Principe

En milieu acide, les ions Ti (IV) forment un complexe jaune en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène. Eisenberg (1943) suppose la formation d'acide pertitanique selon la réaction suivante :

$$Ti^{4+} + H_2O_2 + 2\ H_2O \leftrightarrows H_2TiO_4 + 4\ H^+$$

Le complexe acide pertitanique se forme rapidement et il est stable plusieurs heures, sa coloration orange permet un dosage spectrométrique à 410 nm. Le coefficient d'extinction molaire de ce complexe est égal à 742 L mol^{-1} cm^{-1}.

Une courbe d'étalonnage réalisée avec des solutions de concentrations connues, permettra de déterminer la teneur en peroxyde d'hydrogène des échantillons.

☐ **Réactifs**

– acide sulfurique pur (d = 1,84),

– solution d'acide sulfurique 2 N,

– solution de chlorure de titane ($TiCl_4$) à 9,1 mol/L (solution commerciale),

– solution de chlorure de titane ($TiCl_4$) à 0,091 mol/L :

solution de chlorure de titane Ti Cl_4 à 9,1 mol/L		10 mL
acide sulfurique 2 N	q.s.p.	1 000 mL

Matériel

Spectromètre permettant des mesures à 410 nm.

Mode opératoire

Méthode de dosage

Dans une fiole conique de 100 mL, introduire :

– 25 mL d'échantillon,

– 1 mL de solution de TiCl4 à 0,091 mol/L,

– 1 mL d'acide sulfurique 2N.

Agiter énergiquement.

Laisser reposer 10 minutes.

Mesurer l'absorbance à 410 nm par rapport à un blanc de réactifs (eau déionisée avec ajout de réactifs dans les mêmes conditions que l'échantillon).

Établissement d'une courbe d'étalonnage

À l'aide d'une solution mère de peroxyde d'hydrogène dosée par iodométrie ou manganimétrie (cf. § A-13.6.2) préparer 5 solutions dont les concentrations sont comprises entre 6 10^{-3} mmol/L et 1 mmol/L (soit entre 0,2 et 34 mg/L).

Prélever 25 mL de chaque solution étalon, les introduire dans une fiole conique de 100 ml et la traiter, puis ajouter (comme indiqué ci-dessus) :

– 1 mL de solution de $TiCl_4$ à 0,091 mol/L,

– 1 mL d'acide sulfurique 2N.

Agiter énergiquement. Laisser reposer 10 minutes. Mesurer l'absorbance à 410 nm par rapport à un blanc de réactifs.

Tracer la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour chaque échantillon, calculer la concentration en utilisant la courbe d'étalonnage.

Remarques

– La limite de détection de cette méthode est de l'ordre de 3 10^{-3} mol/L (soit 0,1 mg/L).

– Cette méthode est très sélective.

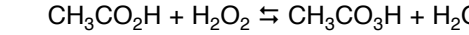
– La faible valeur du coefficient d'extinction molaire limite la sensibilité de la méthode.

13.7 Acide peracétique

13.7.1 Formes chimiques et utilisations

■ Formation et stabilité

L'acide peracétique (CH_3CO_3H) appartient au groupe des hydroperoxydes organiques. Il se prépare par action du peroxyde d'hydrogène sur l'acide acétique en présence d'acide sumlfurique :

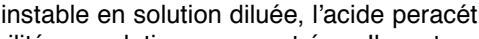


$$CH_3CO_2H + H_2O_2 \leftrightarrows CH_3CO_3H + H_2O$$

Compte tenu de cet équilibre, les solutions d'acide peracétique ne sont jamais pures, elles contiennent également, en proportions variables, de l'acide acétique et du peroxyde d'hydrogène.

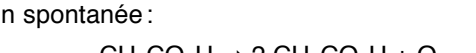
Relativement instable en solution diluée, l'acide peracétique présente une meilleure stabilité en solutions concentrées. Il peut se dégrader suivant 2 voies :

– dégradation spontanée :



$$CH_3CO_3H \rightarrow 2\ CH_3CO_2H + O_2$$

– hydrolyse :



$$CH_3CO_3H + H_2O \rightarrow CH_3CO_2H + H_2O_2$$

■ Réactivité et efficacité désinfectante

En raison de son pouvoir oxydant (E^0 = 1,09 volt), l'acide peracétique oxyde certains composés minéraux (Br^-, HSO_3^-…). Mais en présence de certains ions métalliques lourds (Co^{2+}, Fe^{2+}…) il se décompose en faisant intervenir des entités radicalaires.

Sur les molécules organiques, il peut réagir suivant un mécanisme d'action directe (moléculaire) ou indirecte (radicalaire). Cette action oxydante a été principalement étudiée sur les constituants des cellules bactériennes pour analyser le pouvoir bactéricide de cette molécule. Par action sur les lipoprotéines, il oxyde le matériel cellulaire et serait capable de rompre les liaisons sulfhydryle (-SH) et sulfure (S-S) des enzymes. L'acide peracétique constitue de ce fait un désinfectant largement utilisé dans l'industrie agro-alimentaire. Bien qu'il présente un pouvoir désinfectant inférieur à celui du chlore, l'acide peracétique trouve son intérêt dans des milieux complexes, où la forte réactivité du chlore sur une grande variété de molécules organiques diminue fortement la quantité de chlore impliquée dans les réactions de désinfection et donc l'efficacité de cette désinfection.

Utilisé dans des réseaux et des circuits d'eau pour son impact sur la flore bactérienne fixée sur le matériau (biofilm), l'acide peracétique permet un abattement de certaines proliférations bactériennes.

13.7.2 Dosage de l'acide peracétique par méthode volumétrique (iodométrie et manganimétrie)

■ Principe

Comme indiqué précédemment, l'acide peracétique est présent en solution aqueuse en équilibre avec le peroxyde d'hydrogène :

$$CH_3CO_3H + H_2O \leftrightarrows CH_3CO_2H + H_2O_2$$

Le dosage de l'acide peracétique s'effectue donc en 2 étapes :

– dosage des peroxydes totaux (peroxyde d'hydrogène + acide peracétique) par iodométrie, en présence de molybdate d'ammonium, selon les réactions suivantes :

$$CH_3CO_3H + 2\ I^- + 2\ H^+ \rightarrow CH_3CO_2H + I_2 + H_2O$$

$$H_2O_2 + 2\ I^- \rightarrow I_2 + 2\ H_2O$$

$$I_2 + 2\ S_2O_3^{2-} \rightarrow 2\ I^- + S_4O_6^{2-}$$

– dosage du peroxyde d'hydrogène seul par manganimétrie :

$$5\ H_2O_2 + 2\ MnO_4^- + 6\ H^+ \rightarrow 5\ O_2 + 2\ Mn^{2+} + 8\ H_2O$$

L'acide peracétique est alors déterminé par différence.

☐ Réactifs et mode opératoire

Suivre les indications données dans le chapitre relatif au dosage du peroxyde d'hydrogène par iodométrie et manganimétrie (§ A-13.6.2).

■ Expression des résultats

Les concentrations molaires des différentes entités se calculent grâce aux relations suivantes dans lesquelles toutes les concentrations sont exprimées en mol/L :

$$[\text{Peroxydes totaux}] = \frac{[S_2O_3^{2-}] \cdot V_{S_2O_3^{2-}}}{2\ V_E}$$

$$[H_2O_2] = \frac{5[KMnO_4] \cdot V_{KMnO_4}}{2\ V_E}$$

$$[\text{Acide peracétique}] = [\text{Peroxydes totaux}] - [H_2O_2]$$

Où :

V_E est le volume (en mL) d'échantillon utilisé,

$V_{S_2O_3^{2-}}$ est le volume (en mL) de la solution de thiosulfate de sodium de concentration molaire $[S_2O_3^{2-}]$ utilisé pour le titrage global des peroxydes,

V_{KMnO_4} est le volume (en mL) de la solution de permanganate de potassium de concentration molaire $[KMnO_4]$ utilisé pour le titrage du peroxyde d'hydrogène seul.

Remarque

Cette méthode permet de doser avec une bonne précision les solutions concentrées d'acide peracétique (> 1 mol/L), en utilisant des solutions titrantes 0,1 N (thiosulfate ou permanganate). L'utilisation de solutions titrantes plus diluées (0,01 N) et de volumes d'échantillon plus grands (jusqu'à 200 à 500 mL) permet d'abaisser la détection jusqu'à environ 1 mmol/L.

13.7.3 Dosage de l'acide peracétique résiduel par chromatographie liquide haute performance

■ Principe

La méthode décrite a été développée par Pinkernell *et al.* (1994, 1996).

L'acide peracétique oxyde sélectivement le MTS (1-méthyl-4-méthylthiobenzène) en MTSO (méthyl-4-méthylphénylsulfoxyde). Le peroxyde d'hydrogène présent est décomposé par ajout d'un excès de dioxyde de manganèse.

Une séparation chromatographique du MTSO formé et du MTS en excès permet de quantifier le MTSO formé à l'aide d'un détecteur UV (λ = 230 nm).

□ Réactifs

– solution de MTS (1-méthyl-4-méthylthiobenzène) à 2 mmol/L dans du méthanol,
– dioxyde de manganèse (MnO_2),
– éluant acétonitrile/eau ultra-pure 40/60 (en volume),
– MTSO (méthyl-4-méthylphénylsulfoxyde) pour la préparation des solutions étalons.

□ Matériel

– Chaîne de chromatographie liquide haute performance équipée d'un détecteur UV.
– Colonne C18 à polarité de phase inversée.
– Cartouche de filtration de porosité 0,45 μm.

■ Mode opératoire

Protocole général

Dans une fiole jaugée de 25 mL, introduire :

– 2,5 mL de l'échantillon à doser,
– 5 mL de la solution de MTS à 2 mol/L dans le méthanol.

Compléter à 25 mL avec de l'eau ultra-pure. Agiter et laisser réagir 1 minute.

Ajouter 100 mg de dioxyde de manganèse et agiter.

L'échantillon ainsi traité peut alors être analysé immédiatement ou stocké pendant 24 heures à 4 °C avant analyse.

Filtrer l'échantillon sur filtre-seringue de porosité 0,45 μm.

Injecter en chromatographie. La séparation est assurée en mode isocratique avec le mélange acétonitrile/eau 40/60. La détection UV s'effectue à 230 nm.

Étalonnage

Il est préconisé d'établir l'étalonnage directement avec des solutions de MTSO de concentrations comprises entre 8 10^{-6} mol/L et 0,8 10^{-3} mol/L (soit 0,6 à 61 mg/L). Ces solutions sont injectées directement en chromatographie et les aires de pic obtenues permettent le tracé de la courbe d'étalonnage.

Remarques

– Bien que les auteurs de la méthode annoncent une limite de détection de 0,03 mg/L, il semble difficile d'atteindre des valeurs inférieures à 0,2 mg/L.

– Pour plus de rigueur, l'étalonnage peut s'effectuer en oxydant des solutions d'acide peracétique de concentrations connues par du MTS. Le protocole suivi pour chacune de ces solutions étalon est celui décrit au protocole général.

– S'assurer que le temps d'élution choisi en chromatographie est supérieur au temps de rétention du MTS en excès.

– Le peroxyde d'hydrogène présent dans la solution d'acide peracétique n'interfère pas dans le dosage, car il est quantitativement décomposé par le dioxyde de manganèse en excès.

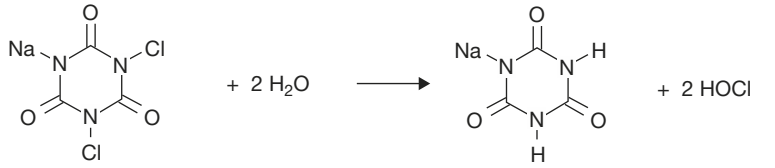
13.8 Chloroisocyanurates

13.8.1 Formes chimiques et utilisations

Les chloroisocyanurates sont des sels solides (poudres, granulés ou galets) de couleur blanche utilisés pour la désinfection, en particulier lors du traitement des eaux de piscines non couvertes. Ils sont commercialisés sous de très nombreuses appellations.

Le terme de chloroisocyanurates regroupe l'acide trichloroisocyanurique (ATCC) et les dichloroisocyanurates de soduim (DCCNa) ou de potassium (DCCK). Au contact de l'eau, ces composés libèrent lentement l'acide hypochloreux (ou l'ion hypochlorite selon le pH de l'eau). Ils sont donc qualifiés de « chlore potentiel », susceptible de libérer du « chlore actif » permettant de contrôler les croissances bactériennes et algales dans l'eau des bassins.

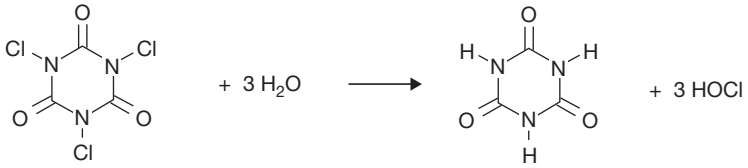
Avec le dichloroisocyanurate de sodium, on libère l'acide hypochloreux ainsi que le cyanurate de sodium, sel quasi neutre, qui n'a aucune influence sur le pH de l'eau traitée.



Dichloroisocyanurate de sodium

Cyanurate de sodium

Avec l'acide trichloroisocyanurique, on observe la formation d'acide cyanurique (ou acide isocyanurique), acide faible, qui fait légèrement baisser le pH du bassin.



Acide trichloroisocyanurique — Acide cyanurique

L'acide cyanurique (ou le cyanurate) formé joue le rôle de stabilisant du chlore puisqu'il présente l'avantage d'absorber le rayonnement UV (qui détruit rapidement le chlore). Mais une accumulation excessive d'acide cyanurique neutralise l'action de l'acide hypochloreux. En conséquence, l'eau des piscines doit réglementairement présenter une teneur en acide isocyanurique inférieure ou égale à 75 mg/L.

Le motif de base de l'acide isocyanurique ($C_3N_3O_3$) est parfois désigné par l'abréviation Cy. Les isocyanurates sont alors désignés par Cl_3Cy pour l'acide trichloroisocyanurique, Cl_2Cy^- pour le dichloroisocyanurate, $HClCy^-$ pour le monochloroisocyanurate, H_2Cy^- pour l'ion cyanurate et H_3Cy pour l'acide cyanurique.

13.8.2 Dosage de l'acide isocyanurique et des chloroisocyanurates dans les eaux de piscines

■ Dosage par néphélométrie

□ Principe

L'acide isocyanurique forme avec la mélamine dans des conditions bien déterminées un précipité de cyanurate de mélamine dosé par néphélométrie.

□ Réactifs

– Solution d'hydrogénophosphate de sodium à 11,8 g / L.

– Solution de dihydrogénophosphate de potassium à 7,73 g/L.

– Solution de mélamine :

mélamine	1 g
solution d'hydrogénophosphate de sodium	50 mL
solution de dihydrogénophosphate de potassium	950 mL

Dissoudre la mélamine dans le mélange des solutions de phosphate. La mélamine est à saturation pour une température comprise entre 15 et 20 °C.

– Solution mère étalon d'acide isocyanurique à 1 g/L :

acide isocyanurique	1 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

– Solution fille étalon d'acide isocyanurique à 100 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/10.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, préparer les dilutions suivantes :

Solution fille étalon à 100 mg/L (mL)	0	1	2,5	5	7,5
Eau déionisée *q.s.p.* (mL)	100	100	100	100	100
Correspondance en mg/L d'acide isocyanurique	0	10	25	50	75

Poursuivre comme pour le mode opératoire.

Mode opératoire

Introduire, dans une fiole jaugée de 100 mL, 20 mL de la solution de mélamine, 50 mL d'eau à analyser, compléter à 100 mL avec de l'eau déionisée, agiter énergiquement. Attendre 5 minutes, effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 600 nm.

Se reporter à la courbe d'étalonnage

Expression des résultats

La courbe donne la teneur en acide isocyanurique exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La précision de la méthode est de 2 mg / L.

– La courbe d'étalonnage est linéaire pour une concentration variant de 0 à 75 mg / L.

– Pour obtenir le meilleur rendement de précipitation du cyanurate de mélamine, le *p*H doit être compris entre 5,8 et 7 et la température entre 18 et 22 °C.

– Après la mesure, rincer soigneusement les cuves et les fioles jaugées, le cyanurate de mélamine ayant tendance à adhérer aux parois.

– Le contrôle des piscines est effectué sur le terrain au moyen de trousses prêtes à l'emploi ; pour leur utilisation, se reporter aux instructions du fabricant.

Dosage par chromatographie ionique

La détermination globale des chloroisocyanurates et de l'acide isocyanurique peut se réaliser par chromatographie ionique dans une gamme de concentration de 20 à 240 mg/L. Aucune interférence du chlore libre n'a été observée pour cette méthode.

On utilisera une colonne de séparation de type multimode permettant la séparation simultanée d'entités neutres ou cationiques. Cette colonne associe deux supports pour combiner un mécanisme d'échange d'anions à une séparation en phase inverse.

La phase mobile se compose d'une solution d'hydroxyde de sodium (28,8 mol/L) contenant 3,5 % de méthanol.

La détection est assurée en UV à 213 nm.

13.8.3 Dosage de l'acide isocyanurique en présence de chlore libre

L'acide isocyanurique et les chloroisocyanurates réagissent avec la DPD, mais cette réaction ne permet pas leur détermination directe. Mais cette réaction crée une interférence lors du dosage du chlore.

Cette méthode s'adresse surtout au contrôle des eaux de piscine utilisant l'acide isocyanurique comme stabilisant.

■ Principe

Le procédé consiste à mesurer la teneur totale en chlore par la méthode à la DPD (A-13.2.4) sur un premier échantillon puis, après élimination du chlore libre, sur un deuxième échantillon.

La différence des mesures donne la teneur en chlore libre.

■ Mode opératoire

Prélever 10 mL d'eau de piscine et effectuer le dosage du chlore total par la méthode à la DPD sur un premier échantillon. Prélever 10 mL d'eau, détruire le chlore libre par addition de 0,010 mg de nitrite de sodium, puis effectuer le dosage du chlore par la méthode à la DPD. La concentration en chlore libre est obtenue par différence entre les deux mesures.

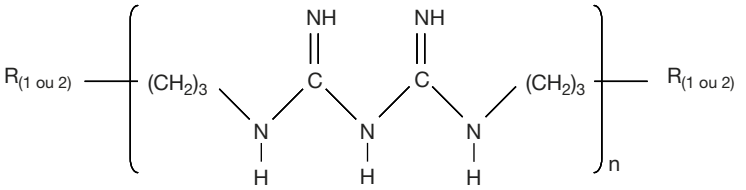
> **Remarque**
> Le dosage peut s'effectuer sur le terrain au moyen d'une trousse prête à l'emploi.

13.9 Polyhexaméthylène biguanide (PHMB)

13.9.1 Formes chimiques et utilisations

Les composés biguanidiques sont des produits non oxydants qui possèdent une efficacité désinfectante indépendante du pH. Cette activité antimicrobienne, qui concerne les bactéries et dans une moindre mesure les virus, a conduit à l'utilisation de certains de ces produits pour la désinfection des eaux de piscines.

Le produit le plus fréquemment cité est le chlorhydrate de polyhexaméthylène biguanide (PHMB-HCl souvent appelé PHMB), dont la formule développée figure ci-dessous. Le PHMB est un polymère très soluble, chargé positivement (ammonium quaternaire), et stable dans une gamme de pH de 4 à 10.



avec $R_1 = -(CH_2)_3 - NH_3^+, Cl^-$ n = 3 à 13

$R_2 = -(CH_2)_3 - NH - C(=NH) - NHCN$

Formule développée du chlorhydrate de polyhexaméthylène biguanide

Ce composé, qui a la structure d'un agent tensio-actif cationique est commercialisé sous différentes appellations (Baquacil, Revacil, Puracil…) à des concentrations variables.

Le mécanisme d'inactivation s'expliquerait par une attraction électrostatique du biguanide cationique par les groupements anioniques de la membrane cytoplasmique des bactéries. La répulsion par les groupements phospholipidiques anioniques provoque une perturbation qui augmente la perméabilité de la membrane et provoque une fuite des composants cytoplasmiques.

13.9.2 Dosages spectrométriques du PHMB

La structure polymérique de la molécule de PHMB ou son caractère cationique lui confère la possibilité de réagir avec de nombreux réactifs, pour conduire à des composés colorés.

Les réactifs les plus utilisés sont :

– l'éosine, qui donne avec le PHMB un complexe coloré rouge,

– le bleu de bromophénol, qui en milieu tamponné et en présence de PHMB (à caractère basique), passe de la forme acide (colorée en vert) à la forme basique (colorée en bleu).

Ces réactions sont utilisées aussi bien pour des méthodes de laboratoire que pour des tests rapides de terrain (bandelettes, photomètres de terrain avec réactifs en pastilles).

Le rouge de phénol est également cité par des fournisseurs d'appareillages de terrain.

Les intensités de la couleur du composé formé sont proportionnelles à la concentration en PHMB, ce qui permet le dosage du PHMB.

Certaines de ces méthodes cependant seraient sujettes à des interférences. Pour palier ce problème, des méthodes HPLC ont été développées, mais elles ne permettent pas des analyses rapides sur site (en piscines). Une nouvelle méthode analytique, basée sur le réactif nickel-nioxime a été développée.

Nous présentons ici 2 méthodes, la méthode à l'éosine et celle au nickel-nioxime.

■ Dosage colorimétrique du PHMB par la méthode à l'éosine Y

Principe

Le PHMB forme avec l'éosine un complexe de couleur rouge analysable par spectrométrie à 545 nm.

☐ Réactifs

– solution d'acétate de sodium à 100 g/L :

acétate de sodium (CH_3COONa)		600 mg
eau déionisée	q.s.p.	100 mL

– solution mère d'éosine Y à 6 g/L :

éosine Y ($C_{20}H_8Br_4O_5$)		600 mg
eau déionisée	q.s.p.	100 mL

Laisser la solution sous agitation jusqu'à dissolution complète. La solution rouge obtenue doit être limpide. Conservée à l'abri de la lumière, elle reste stable plusieurs semaines.

– solution fille d'éosine Y à 240 mg/L :

Diluer la solution mère au 1/25e.

solution mère d'éosine Y à 6 g/L		10 mL
eau déionisée	q.s.p.	250 mL

– Solution étalon de PHMB à 1 g/L :

Préparer cette solution à partir du composé commercial utilisé dans les piscines étudiées.

PHMB		1 000 mg
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

☐ Matériel

Spectromètre permettant une mesure d'absorbance à 545 nm.

☐ Mode opératoire

ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

Dans une fiole jaugée de 50 mL, introduire successivement :

– 2 mL de la solution d'acétate de sodium à 100 g/L,
– 5 mL de la solution fille d'éosine Y à 240 mg/L,
– 20 mL d'échantillon.

Compléter à 50 mL avec de l'eau déionisée.

Agiter et attendre 5 minutes.

Après ce temps d'attente, effectuer rapidement la mesure d'absorbance à 545 nm.

ÉTALONNAGE

En utilisant la solution étalon de PHMB, préparer une gamme d'étalonnage comprenant 5 à 6 solutions de concentrations comprises entre 0 et 100 mg/L. Sur chacune de ces solutions procéder selon le mode opératoire décrit pour l'analyse des échantillons. Mesure l'absorbance de chaque solution à 545 nm et tracer la courbe d'étalonnage absorbance = f (concentration).

Expression des résultats

En se référant à la courbe d'étalonnage, exprimer la concentration en PHMB des échantillons en mg/L.

■ Dosage colorimétrique du PHMB par la méthode au nickel-nioxime

Principe

Le PHMB réagit avec du nickel (II) en excès pour former un complexe. Le nickel en excès, qui ne s'est pas complexé avec le PHMB, réagit ensuite avec le nioxime pour former un composé coloré en rose. L'absorbance de la solution est mesurée à 550 nm et l'intensité de la couleur diminue quand la concentration en PHMB augmente.

□ Réactifs

– Solution de chlorure de nickel à 800 mg/L :

Chlorure de nickel dihydraté $NiCl_2,6H_2O$		0,080 g
Eau déionisée		50 mL
Ammoniaque (NH_4OH) concentré		15 mL
Eau déionisée	q.s.p.	100 mL

Dans une fiole jaugée de 100 mL, dissoudre 0,080 g de chlorure de nickel (II) dans environ 50 mL d'eau déionisée. Ajouter 15 mL d'ammoniaque concentré et compléter à 100 mL avec de l'eau déionisée.

– Solution de nioxime à 4,00 g/L :

Nioxime ($C_6H_{10}N_2O_2$)		0,400 g
Eau déionisée	q.s.p.	100 mL

– Solution étalon de chlorhydrate de PHMB à 100 mg/L.

□ Matériel

Spectromètre permettant une mesure d'absorbance à 550 nm.

Mode opératoire

ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

Dans une fiole conique de 100 mL, introduire 50 mL d'eau à analyser.

Ajouter 1 mL de solution de chlorure de nickel à 800 mg/L et mélanger.

Laisser agir 3 minutes.

Ajouter ensuite 1 mL de la solution de nioxime à 4 g/L et mélanger soigneusement.

Mesurer l'absorbance à 550 nm.

ÉTALONNAGE

En utilisant la solution étalon de chlorhydrate de PHMB, préparer une gamme d'étalonnage comprenant 5 à 6 solutions de concentrations comprises entre 0 et 20 mg/L. Procéder selon le mode opératoire décrit pour l'analyse des échantillons. Mesure l'absorbance de chaque solution à 550 nm et tracer la courbe d'étalonnage absorbance = f (concentration).

Expression des résultats

En se référant à la courbe d'étalonnage, exprimer la concentration en PHMB des échantillons en mg/L.

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre A-1 (Généralités)

P.L. Smart, I.M.S. Laidlaw (1977). An evaluation of some fluorescent dyes for water tracing. *Water Resources Research*, 13, (1), p. 15-33.

A. Montiel (1979). Dosage des éléments minéraux à l'état de trace au niveau de quelques microgrammes par litre. Causes d'erreurs : pollutions, interférences. Moyens d'y remédier. *T.S.M.*, **3**, p. 173-181.

R.L. Malcolm, G.R. Aiken, E.M. Thurman and P.A. Avery (1980). Hydrophilic organic solutes as tracers in groundwater recharge studies, In : Contaminants and sediments, R.A. BALKER Ed., Butterworth-Heinemann, Woburn, Mass., p. 71-88.

A. Montiel et coll (1981). Conservation des échantillons. *T.S.M.*, **5**, p. 285-290.

D. D'Arras, J.C. Cournarie, R. L'héritier et A. Montiel (1981). Connaissance de la qualité de l'eau de rivière utilisée à des fins alimentaires. *T.S.M.*, **11**, p. 567-571.

J. Ranchet, F. Pescheux et F. Ménissier (1981). Influence du mode et du temps de conservation des échantillons d'eaux sur les déterminations de DBO_5, DCO et MES. *T.S.M.*, **11**, p. 547-551.

P.L. Smart (1984). A review of the toxicity of twelve fluorescent dyes used for water tracing. *NSS Bulletin,* 46, p. 21-33.

M. Forgeot (1990) Les mesures de débit en rivière. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances*, 141 : 51.

Guide pour l'échantillonnage des eaux (1992). Réseau National d'Essais. Document n° 23.

L.H. Keith (1996) Principles of environmental sampling, 2nd ed. ACS Professional Reference Book, American Chemical Society, Washington, D.C.

C. Leibundgut, S. Hadi (1997). A contribution to toxicity of fluorescent tracers. In : *Tracer Hydrology*, A.A.Balkema, Rotterdam, ISBN 90-5410875-4.

W. Käss (1998). Tracing technique in geohydrology. A.A.Balkema Ed., Brookfield Vt, p. 581.

H. Behrens *et al.* (2001). Toxicological and ecotoxicological assessment of water tracers. *Hydrogeology Journal*, 9, p. 321-325.

SSH (2002). Utilisation des traceurs artificiels en hydrogéologie, Guide pratique. Groupe de travail Traçage de la Société Suisse d'Hydrogéologie (SSH).

M. Flury and N.N. Wai (2003). Dyes as tracers for vadose zone hydrogeology. Reviews of geophysics, 41, 1, section 2, p. 1-37.

C. Haritchabalet (2003). Méthodes et techniques de mesure des débits de rivières. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances*, 263, p. 72.

C. de Fouquet et C. Bernard-Michel (2006). Modèles géostatistiques de concentrations ou de débits le long des cours d'eau, *C. R. Geoscience*, 338, p. 307.

J. Carré, M. Joyeux et A. Montiel (novembre/décembre 2007). Risques sanitaires associés aux traceurs fluorescents utilisés en hydrologie, *Environnement Risques et Santé*, vol. 6, n° 6, p. 443-452.

N. Dörfliger (2007). Advances in karst groundwater protection strategy using artificial tracer tests analysis and multiattribute vulnerability mapping. Thèse 3e cycle, Université de Neuchâtel, Suisse.

Chapitre A-2 (Caractères organoleptiques)

Couleur

A. Hazen (1896). The measurement of the colors of natural waters. *J. Am. Chem. Soc.* **18**, p. 264.

X. Lejeune (1981). Évaluation de la coloration apportée dans le milieu naturel par les effluents. *Technique de l'eau.* **414/415**, p. 47-50.

C.N. Sawyer *et al.* (1994). Color. *In Chemistry for Environmental Engineering,* 4th ed., Chap. 14, Mc Graw Hill, New York, N.Y.

Odeur

G. Bourdonnay (1980). Saveur et odeur. *TSM,* **3**, p. 120-125.

M.C. Meilgaard (1988). Sensory evaluation techniques applied to water works samples, *water Quality Bull.* 13, (2/3), p 39. WHO Collaborating Centre on Surface and Groundwater Quality, Burlington, Ont., Canada.

W.H. Bruvold (1989). A critical review of methods used for the sensory evaluation of water quality, *Crit. Rev. Environ. Control*, 19, p. 291.

W.F. Young *et al.* (1996). Taste and odour threshold concentration of potential potable water contaminants, *Water Research*, 30, p. 331.

Goûts, saveur, flaveur

P. Guinvarc'h (1958). Contrôle des odeurs et des goûts dans les eaux d'alimentation. *L'eau*, **3**, p. 49 et **4**, p. 85.

D. Benanou *et al.* (2002). Méthode nouvelle de compréhension des problèmes de goûts et d'odeurs de l'eau potable. *Journées Information Eaux Poitiers,* Annales 2002, conférence 16.

P. Piriou *et al.* (2004). Approche intégrée au niveau d'une usine de traitement d'eau potable pour la maîtrise de goûts et d'odeurs. *Journées Information Eaux Poitiers,* Annales 2004, conférence 30.

S. Gaborit D. Lenes et A. Ponthieux (2008). Retour d'expérience d'une étude des goûts et des odeurs dans l'eau potable menée sur trois sites : diagnostic, identification des paramètres influents et mise en place d'actions correctives. *Journées Information Eaux Poitiers,* Annales 2008, conférence 49.

Chapitre A-3 (Particules en suspension et colloïdes)

Matières en suspension

J. Bouquiaux, A. Martens, E. Leclerc, P. Beaujean (1953). La détermination des matières en suspension dans les eaux. Étude comparative des diverses techniques de laboratoires. *C.B.E.D.E.,* **34**, p. 66.

A.L. Smith and A.E. Greenberg (1963). Evaluation of methods for determining suspended solids in wastewater, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 35, p. 940.

D.G. Goodin *et al.* (1993). Analysis of suspended solids in water using remotely sensed high resolution derivative spectra, *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 59, p. 505.

V.K. Choubey (1998). Laboratory experiment, field and remotely sensed data analysis for the assessment of suspended solids concentration and secchi depth of the reservoir surface water, *International Journal of Remote Sensing*, 19, p. 3349.

Résidu total

G.E. Symons and B. Morey (1941). The effect pf drying time on the determination of solids in sewage and sewage sludges. *Sewage Works J.* 13, p. 936.

Turbidité

J. Rodier, M. Faivre-Duboz (1957). Remarques sur les mesures de turbidité des eaux. *L'eau*, **12**, p. 263.

G. Noisette (1959). Relation entre mesure de turbidité et matières en suspension non décantables. *C.B.E.D.E.,* Bull. trimestriel, **III**, (45), p. 139.

C.C. Hach *et al.* (1985). Understanding turbidity measurement. Hach Co., Technical Information Ser., Booklet 11, Loveland, Colo.

K.V. Grigoryan *et al.* (1991). Error analysis and state estimation in metrological support to turbidity analyzers for naturals waters and effluents*, Measurement Techniques,* 34, p. 735.

V.S. Hart *et al.* (1992). An analysis of low-level turbidity measurements. *J. Amer. Water Works Assoc.* 84, (12), p. 40.

M. Frost et E. Huber (1997). Mesure en continu de la turbidité, *L'Eau l'industrie les nuisances*, 206, p. 42.

B. Welte et A. Montiel (2002). Étude comparative de mesure de la turbidité sur différentes eaux, *L'Eau l'industrie les nuisances*, 255, p. 125.

M.O. Mizier (2005). La mesure de turbidité : un paramètre essentiel pour les eaux potables comme pour les eaux usées, *L'Eau l'industrie les nuisances*, 284.

Potentiel zêta

Z. Wang (1998). Effects of zeta potentials of suspended particles on deep bed filtration for water and wastewater treatment, *Proceedings, Annual Conference-Canadian Society for Civil Engineering*, 2, p. 31.

C. Vizcaino (2001). Mesure de la granulométrie et du potentiel Zêta en milieu concentré par technique électro-acoustique, *Spectra 200 analyses*, 30, p. 32.

E.L. Sharp *et al.* (2005). Application of zeta potential measurements for coagulation control : pilot-plant experiences from UK and US waters with elevated organics, Water Supply, 5, p. 49.

T. Leiviska et J. Ramo (2007). Investigation of multimodal zeta potential and size distribution in chemical pulp process water, *Water Science and Technology*, 56, p. 123.

Indices de colmatage

J.C. Schippers and J. Verdouw (1980). The modified fouling index, A method of determining the fouling characteristics of water, *Desalination*, 32, p. 137.

P. Lipp *et al.* (1990). A comparative study of fouling-index and fouling potential of waters to be treated by reverse osmosis, *Desalination*, 79, p. 203.

M. Pontié *et al.* (2001). Les techniques séparatives à membranes – Théorie, applications et perspectives*, Paris* : Union Internationale pour les applications de l'électricité, p. 212.

F.E. Siobhan *et al.* (2002). The modified fouling index using ultra filtration membranes (MFI-UF) : characterisation, filtration mechanisms and proposed reference membrane, *Journal of Membrane Science*, 197 : 1.

S.F.E. Boerlage, M.D. Kennedy, M.R. Dickson, D.E.Y. El-Hodali, J.C. Schippers (2002). The modified fouling index using ultrafiltration membranes (MFI-UF) : characterisation, filtration mechanism and proposed reference membrane, *Journal of Membrane Sciences*, 197, 1-21.

A.P. Tamas (2004). Étude comparée du colmatage en nanofiltration et en ultrafiltration d'eau de surface, Thèse de doctorat en génie civil, Université Laval, Québec (Canada), Faculté des Sciences et du Génie.

A.C. Gonzalez *et al.* (2005). Predicting colloidal fouling in reverse osmosis and nanofiltration systems. Applying the Modified Fouling Index (MFI), *Tecnologia del Agua*, 25 : 54.

K. Kecili, H. Habarou, H. Suty, J.P. Croue et M. Pontié (2006). Approche analytique intégrée du colmatage de membranes MF-UF par les matières organiques naturelles (MON). Partie 1 : Caractérisations *in situ* et modèles de colmatage. *Comptes rendus Chimie*, 9 (9), 1178-1191.

H. Huang *et al.* (2008). Unified membrane fouling index for low pressure membrane filtration of natural waters : principles and methodology, Environmental *Science and Technology*, 42 : 714.

Chapitre A-4 (Gaz dissous)

Oxygène

L. W. Winkler (1888). The determination of dissolved oxygen in water. *Ber*, **21**, p. 2843.

G. Alsterberg (1925). Methods for the determination of elementary oxygen dissolved in water in presence of nitrite. *Biochem. Z.*, **153**, p. 36-45.

L.W. Winklerd, E. Carritt and J.W. Kanwisher (1959). An electrode system for measuring dissolved oxygen, *Anal. Chem.* 31 : 5.

M. Montgomery (1964). Determination of dissolved oxygen by the Winkler method. *J. Appl. Chem.*

J.J. McKeown *et al.* (1967). Comparative studies of dissolved oxygen analysis methods, *J. Water Pollut. Control Fed.* 39 : 1323.

S. Muangkaew *et al.* (2002). A reverse-flow injection analysis method for the determination of dissolved oxygen in fresh and marine waters, *Talanta*, 58 : 1285.

V.V. Kuznetsov (1996). Reversed flow-injection photometric analysis for the monitoring of dissolved oxygen in water, *Journal of Analytical Chemistray*, 51 : 993.

C. Netter (1998). Détermination automatisée de la DBO_5. Validation de la mesure d'oxygène dissous en flacon ouvert, *L'Eau l'industrie les nuisances*, 216 : 40.

S. Risicato et P. Chavillon (1999). La mesure d'oxygène dissous faibles teneurs dans les eaux de chaudières : impacts sur les circuits, *L'Eau l'industrie les nuisances*, 226 : 44.

Dioxyde de carbone

W. F. Langelier (1936). The analytical control of anticorrosion water treatment. *J.A.W.W.A.*, **28**, p. 1500.

E. W. Moore (1939). Graphic determination of carbon dioxyde and three forms of alcalinity. *J.A.W.W.A.*, **31**, p. 51.

J.F. Dye (1944). The calculation of alcalinities and free carbon dioxyde in water by use of nomographs. *J.A.W.W.A.*, **36**, p. 895-900.

D.C.E. Bakker *et al.* (1996). Dissolved carbon dioxide in Dutch coastal waters, Marine Chemistry, 55 : 247.

D.C.E. Bakker *et al.* (1999). Dissolved carbon dioxide in Tropical East Atlantic Surface Waters, *Physics and Chemistry of the Earth*, 24 : 399.

H.P. Jarvie *et al.* (2001). Use of continuous water quality records for hydrograph separation and to assess short-term variability and extremes in acidity and dissolved carbon dioxide for the River Dee, Scotland, The Science of the Total Environment, 265 : 85.

O.I. Martynova (2002). The behavior of organic compounds and dissolved carbon dioxide in the steam-water path of power stations, *Thermal Engineering*, 49 : 597.

Chapitre A-5 (Salinité totale et titres)

Résidus et sels dissous totaux

J. Oppenheimer and A.D. Eaton (1986). Quality control and mineral analysis, In Proc. Water Quality Technology Conference (Houston Texas, December 8-11 1985). American Water Works Assoc., Denver Colorado.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Conductivité électrique

C. Richard, N. Van Cu (1961). Relation entre la résistivité d'une eau et son taux de minéralisation. *L'eau*, **1**, p. 22-24.

Organisation Internationale de Métrologie Légale (1981). Standard solutions reproducing the conductivity of electrolytes. International recommendation, n° 56, 1st ed. Bureau International de Métrologie Légale, Paris, France.

Y.C. Wu *et al.* (1987). Review of electrolytic conductance standards, *J. Solution Chem., 16 n° 12.*

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

L. Sigg, P. Behra et W. Stumm (2000). Chimie des milieux aquatiques, 3e édition, DUNOD, Paris.

pH

W. F. Langelier (1946). Effect of temperature on the *p*H natural waters *J.A.W.W.A.* **38**, p. 179.

G. Vivin (février 1957). Mesure et régulation du *p*H. *Génie Chimique*, **37**.

R.G. Bates (1978). Concept and determination of pH. In I.M. Kolthoff & P.J. Elving eds. Treatise on Analytical Chemistry. Part 1, Vol. 1, p. 821. Wiley-Interscience, New York, N.Y.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

L. Sigg, P. Behra et W. Stumm (2000). Chimie des milieux aquatiques, 3e édition, DUNOD, Paris.

Potentiel d'oxydo-réduction

D.J.G. Ives and G.J. Janz (1961). Reference electrodes. Academic Press, New York, N.Y.

M.J.N. Pourbaix (1966). Atlas of electrochemical equilibriums in aqueous solutions. Centre Belge d'Etudes de la Corrosion.

T.S. Light (1972). Standard solution for redox potential measurement. *Anal. Chem.*, 44 : 1038.

O.P. Bricker (1982). Redox potential : Its measurements and importance in water systems, In R.A. Minear & L.H. Keith, eds. Water Analysis, Vol.1, Inorganics species. Academic Press, New York, N.Y.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

L. Sigg, P. Behra et W. Stumm (2000). Chimie des milieux aquatiques, 3e édition, DUNOD, Paris.

Acidité

P. Coin (1942). La détermination de l'acidité dans les eaux naturelles. *Ann. Hyg. Publ. Ind. Social*, **20**.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris

L. Sigg, P. Behra et W. Stumm (2000). Chimie des milieux aquatiques, 3e édition, DUNOD, Paris.

Alcalinité

T.E. Larson and L.M. Henley (1955). Determination of low alkalinity or acidity in water. *Anal. Chem.* 27 : 851.

S.R. Jenkins and R.C. Moore (1977). A proposed modification to the classical method of calculating alkalinity in natural waters. *J. Amer. Water Works Assoc.* 69/56.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

L. Sigg, P. Behra et W. Stumm (2000). Chimie des milieux aquatiques, 3e édition, DUNOD, Paris.

F. Moran (2002). Chauffage, climatisation, installations sanitaires : Traitement des eaux. EDIPA Éditions Parisiennes, Chaud-Froid-Plomberie, Paris.

Dureté ou Titre hydrotimétrique

J. Rodier, CH. Graude (1952). Détermination de la dureté dans les eaux par la méthode au complexon III. *Bull. Institut d'Hygiène du Maroc*, N.S. **XII**, (3-4), p. 275.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris

L. Sigg, P. Behra et W. Stumm (2000). Chimie des milieux aquatiques, 3e édition, DUNOD, Paris.

F. Moran (2002). Chauffage, climatisation, installations sanitaires : Traitement des eaux. EDIPA Editions Parisiennes, Chaud-Froid-Plomberie, Paris.

Titre acidimétrique

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris

F. Moran (2002). Chauffage, climatisation, installations sanitaires : Traitement des eaux. EDIPA Editions Parisiennes, Chaud-Froid-Plomberie, Paris.

Chapitre A-6 (Équilibre calcocarbonique)

J.-J. Rankin (1918). Acidity determination in water, leach liquors, Mine waters, etc., Met., Chem., Eng., p. 18-96.

P. Coin (1942). La détermination de l'acidité dans les eaux naturelles. Ann. Hyg. Publ. Ind. Social, 20.

D. S. McKinney, A. M. Amorosi (1944). Determination of carbon dioxide in water. Ind. Eng., Chem. Anal., Ed., 16, p. 315.

H. Mathieu (1946). Manuel d'analyse chimique volumétrique. Masson et Cie, Paris, p. 467.

H. Guérin (1952). Traité de manipulation et d'analyse des gaz. Masson et Cie, Paris, p. 453.

R. Melet (1955). Étude chimique et microbiologie des eaux d'alimentation de Segré. Rapports entre les taux d'acide carbonique, de fer et la flore ferrugineuse (Imprimerie des dernières nouvelles de Strasbourg).

L. Legrand et G. Poirier (1976). Chimie des eaux naturelles, Eyrolles.

L. Legrand, G. Poirier et P. Leroy (1981). Les équilibres carboniques et l'équilibre calcocarbonique dans les eaux naturelles, Eyrolles.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Chapitre A-7 (Cations et anions)

Méthodes instrumentales

Note : Les références de cette section sont également applicables à tous les anions et cations présentés dans l'ouvrage.

H. Onishi (1979). Colorimetric determination of traces of metals, *4th ed. Interscience Publishers*, New York, N.Y.

A. Montiel, B. Welte, J. Carré (1981). Contribution à l'étude des interférences et pollutions lors du dosage par A.A. des éléments minéraux à l'état de trace dans les eaux au niveau de quelques microgrammes. *Analusis,* **9**, (1 et 2), p. 1-13.

A. Montiel, B. Welte (1986). La méthode des ajouts dosés. Limites d'automatisation et d'utilisation en spectrométrie d'absorption atomique. *Analusis*, **14** (3), p. 167-172.

U.S. Environmental Protection Agency (1991). Methods for determination of metals in environmental samples. Method 218.6. *EPA-600/4-91-010, Environmental Monitoring Systems Lab.,* Cincinnati, Ohio.

C. Rosin, M. Morlot, N. Ganne, P. Hartemann, J.C. Boeglin (1992). Intérêt de l'ICP/MS pour l'analyse d'éléments minéraux dans l'eau. *Journ. français d'Hydrologie*. **23**, (1), p. 183-190.

N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet et P. Clechet (octobre 1994). Capteurs chimiques et biochimiques. *Techniques de l'Ingénieur. Mesures et contrôle*. PE 360 – R 420, p. 1 à 21.

M. Caude et A. Jardy (octobre 1994). Chromatographie en phase liquide, Théorie et méthodes de séparation. *Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Chromatographie et techniques séparatives* PE 1455, 10/1994, p. 1 à 47.

J.E. Longbottom *et al*. (1994). Determination of trace elements in water by inductively coupled plasma-mass spectrometry : collaborative study. *J. AOAC Internat.,* 77 : 1004.

M. Caude et A. Jardy (avril 1995). Chromatographie en phase liquide, Appareillage et applications. *Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Chromatographie et techniques séparatives*, PE 1456, p. 1 à 17.

U.S. Environmental Protection Agency (1995) Method 1638 : Determination of trace elements

in ambient waters by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *U.S. Environmental Protection Agency, Off. Water,* Washington, D.C.

M. Caude et A. Jardy (avril 1996). Méthodes chromatographiques, Introduction. Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Chromatographie et techniques séparatives, PE 1 445, p. 1 à 6.

J. Vaudeghans, A.-M. de Kersabiec et M. Hoenig (mars 1997). Spectrométrie d'absorption atomique, *Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Spectrométrie des rayonnements électromagnétiques,* P 2825, p. 1 à 27

A. Hagege, A. Lamotte et M. Leroy (juin 1998). Analyse de traces et d'ultratraces d'éléments, *Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Analyses dans l'environnement*, P 3860, p. 1 à 13.

M. Potin-Gautier et C. Casiot (décembre 2001). Couplage HPLC-ICP-MS et application à la spéciation. *Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Analyses dans l'environnement*, P 3872, p. 1 à 13.

F. Rouessac et A. Rouessac (2004). Analyse chimique, Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, éditions sciences Sup, 6e édition, Paris.

S. Blain (mars 2006). Analyse par injection en flux continu (FIA). Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Chromatographie et techniques séparatives, 1 510v2, p. 1 -12.

R. Munoz-Olivas (juin 2006). Détermination d'éléments traces dans l'environnement. Techniques de l'Ingénieur. Mesure-Analyse, Techniques d'analyse, Analyse dans l'environnement, PE 3855, p. 1 à 8.

Aluminium

C. I. Luke, K. C. Braun (1952). Photometric determination of aluminium. *Anal. Chem.,* **24**, p. 1120.

K.E. Schull and G.R. Guthan (1967). Rapid modified Eriochrome cyanine R method for determination of aluminium in water. *J. Amer. Water Works Assoc.* 59 : 1456.

R.L. Benson *et al.* (1990). On-line determination of residual aluminium in potable and treated waters by flow-injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, 238 : 177.

H.J. Salacinsky *et al.* (1992). Coupled flow-injection analysis-flame atomic absorption spectrometry for the quantitative determination of aluminium in beverages and waters incorporating on-line cation exchange, *Analytica Chimica Acta*, 269 : 1.

H.H. Yeh et T.M. Chuang (1994). The analysis of residual aluminium and its application in drinking water treatment, *Aqua*, 43 : 76.

G. Wauer *et al.* (2004). Analysis of Toxic Aluminium Species in Natural Waters, *Microchimica Acta*, 146 : 149.

Ammonium

G. Van Beneden (1953). Les techniques de dosage des azotes dans les eaux, *C.B.E.D.E.*, **36**, p. 112.

F. Koroleff (1969). Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol-blue. *Intl Council for exploration of the sea :* C.M. C : 9.19.1969.

A. R. Deschreider, R. Meaux (1973). Utilisation d'une électrode ionique spécifique pour le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl. *Analusis*, **2** (6), p. 442.

R.L. Booth and R.F. Thomas (1973). Selective electrode determination of ammonia in water and wastes. *Environ. Sci. Technol.* 7 : 523.

E.M. Fujinari et L.O. Courthaudon (1992). Nitrogen-specific liquid chromatography detector based on chemiluminescence : Application to the analysis of ammonium nitrogen in waste water, *Journal of Chromatography A*, 592 : 209.

M.O. Mizier (2005). Pour réduire les coûts, Hach Lange place l'analyse d'ammonium et de phosphates au bord du bassin, *L'Eau l'industrie les nuisances*, 286 : 115.

C. Molins-Legua *et al.* (2006). A guide for selecting the most appropriate method for ammonium determination in water analysis, *Trends in Analytical Chemistry*, 25 : 282.

C. Frank et F. Schroeder (2007). Using Sequential Injection Analysis to Improve System and Data Reliability of Online Methods : Determination of Ammonium and Phosphate in Coastal Waters, Journal of Automated Methods and Management in Chemistry, 10.1155 : 49535.

C. Laskov *et al.* (2007). Miniaturized photometrical methods for the rapid analysis of phos-

phate, ammonium, ferrous iron, and sulphate in pore water of freshwater sediments, The American Society of Limnology and Oceanography, 4 : 63.

Antimoine

H. Huiliang *et al.* (1988). Flow constant-current stripping analysis for antimony (III) and antimony (V) with gold fibre working electrodes. Application to natural waters, *Analytica Chimica Acta*, 202 : 123.

Y.C. Sun *et al.* (1993). Determination of antimony (III, V) in natural waters by coprecipitation and neutron activation analysis, *Analytica Chimica Acta*, 276 : 33.

Y.C. Sun et J.Y. Yang (1999). Simultaneous determination of arsenic (III, V), selenium (IV, VI), and antimony (III, V) in natural water by coprecipitation and neutron activation analysis, *Analytica Chimica A*cta, 395 : 293.

I.D. Gregori *et al.* (2005). Simultaneous speciation analysis of Sb (III), Sb (V) and $SbCl_2$ by high performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry detection (HPLC-HG-AFS) : Application to antimony speciation in sea water, *Journal of Chromatography A*, 1091 : 94.

A.R. Kumar et P. Riyazuddin (2007). Non-chromatographic hydride generation atomic spectrometric techniques for the speciation analysis of arsenic, antimony, selenium, and tellurium in water samples, International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 87 : 469.

Argent

T. B. Pierle (1960). *Determination of traces quantities of silver in trade effluents.* Analyst., p. 85-166.

V.N. Oreshkin *et al.* (1996). Ultratrace analysis for silver, bismuth, and thallium in natural water by sorption-atomic fluorescence with direct atomization of powdered concentrate, *Geochemistry International*, 34 : 1002.

R. Zhang *et al.* (2001). Determination of trace amounts of silver in water by differential chronopotentiometric stripping analysis, *Lihua Jianyan : Huaxue Fence/Physical Testing and Chemical Analysis Part B : Chemical Analysis,* 37 : 200.

D.K. Essumang et B.K. Nortsu (2008). Analysis of silver in the water column of the Pra and the Eture estuaries in Ghana, *Chemistry and Ecology*, 24 : 297.

Arsenic

G. Stratton, H. C. Whitehead (1962). Colorimetric determination of arsenic in water with silver diethyldithiocarbamate. *J.A.W.W.A.,* 54, (7), p. 861-864.

J. F. Kopp (janvier 1973). 1-*Ephedrine in chloroform as a solvent for silver diethyldithiocarbamate in the determination of arsenic.* U.S. Environmental Protection Agency.

F. J. Fernandez (1973). Atomic absorption determination of gaseous hydrides utilizing sodium borohydride reduction. Atomic Absorption *Newsletter.* **12**, (4), p. 93-97.

K.J. Irgolic (1987). Analytical procedures for the determination of organic compounds of metals and metalloids in environmental samples. *Sci. Total Environ.* 64 : 61

R. Pinel (1991). L'analyse des organométalliques en traces dans l'eau : arsenic, étain, mercure, et plomb, *Analusis*, 19.

N. Van Suc *et al.* (1996). Determination of mercury and arsenic in fresh water by neutron activation analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear chemistry*, 213 : 65.

P. Thomas (1997). Interet du couplage HPLC-ICP-MS : Étude des formes chimiques de l'arsenic et du sélénium dans l'eau : vers une utilisation en analyse de routine, Analusis, 25.

B. Klaue et J.D. Blum (1999). Trace analyses of arsenic in drinking water by inductively coupled plasma mass spectrometry : High resolution versus hydride generation, *Analytical Chemistry*, 71 : 1408.

M. Pantsar-Kallio et P.K.G. Manninen (1999). Optimizing Ion Chromatography Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Speciation Analysis of Arsenic, Chromium and Bromine in Water Samples, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 75 : 43.

Y. Kikawada *et al.* (2004). Determination of arsenic and bromine in hot spring waters by neutron activation analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 261 : 381.

J.M. Bundaleska *et al.* (2005). Direct analysis of natural waters for arsenic species by hydride

generation atomic absorption spectrometry, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 85 : 199.

J. A. Rodriguez *et al.* (2005). Speciation of Inorganic Arsenic in Waters by Potentiometric Flow Analysis with On-Line Preconcentration, *Electroanalysis*, 17 : 504.

P. Niedzielski et M. Siepak (2005). Speciation analysis of inorganic form of arsenic in ground water samples by hydride generation atomic absorption spectrometry with insitu trapping in graphite tube, *Central European Journal of Chemistry*, 3 : 82.

J. Darrouzes *et al.* (2006). Optimisation d'un ICPMS à cellule de collision/réaction pour l'analyse de l'arsenic et du sélénium dans les eaux naturelles, Journal européen d'hydrologie, 37 : 65.

P. Liang et R. Liu (2007). Speciation analysis of inorganic arsenic in water samples by immobilized nanometer titanium dioxide separation and graphite furnace atomic absorption spectrometric determination, *Analytica Chimica Acta*, 602 : 32.

A.R. Kumar et P. Riyazuddin (2007). Non chromatographic hydride generation atomic spectrometric technique for the speciation analysis of arsenic, antimony, selenium and tellurium in water samples, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 87 : 469.

Baryum

R. Ferrus et F. Tourades (1985). Limit of detection in barium sulphate gravimetry for water analysis, *Analyst*, 110 : 403.

Béryllium

C. L. Luke ET M. E. Campbell (1952). Photometric determination of beryllium-copper alloys. *Anal Chem.* **24**, p. 1056.

K. Ashley *et al.* (2005). Standard methods for beryllium sampling and analysis : Availabilities and needs, Journal of ASTM International, 2 : 357.

M.J. Brisson *et al.* (2006). Trace-level beryllium analysis in the laboratory and in the field : State of the arte, challenges and opportunities, Journal of Environmental Monitoring, 8 : 605.

Bismuth

V.N. Oreshkin *et al.* (1996). Ultra trace analysis for silver, bismuth, and thallium in natural water by sorption-atomic fluorescence with direct atomization of powdered concentrate, *Geochemistry International*, 34 : 1002.

Borates et bore

J.T. Hatcher and L.V. Wilcox (1950). Colorimetric determination of boron using carmine. *Anal. Chem.* 22 : 567.

R. J. Lishka (1961). Comparison of analytical procedures for boron. *J.A.W.W.A.,* **53**, p. 1517.

R. Navone (1961). Determination of boron in sewage effluents. *Water and Sewage Works.* **12**, p. 482.

N.G. Bunton (1987). Analytical procedures for the determination of organic compounds of metals and metalloids in environmental samples. *Sci. Total Environ.* 64 : 61.

R.E. Khadsan et M.V. Kadu (2004). Drinking water quality analysis of some bore-wells water of Chikhli Town Maharashtra, Journal of Industrial Pollution Control, 20 : 31.

D.K. Bhoi *et al.* (2005). Physico-chemical analysis of bore wells drinking water of Nadiad territory, *Asian Journal of Chemistry*, 17 : 404.

M. Shakthi *et al.* (2008). Physico-chemical analysis of bore water quality around sugar factory, *Ecology Environment and Conservation*, 14 : 379.

Bromates

R.J. Joyce and H.S. Dhillon (1994). Trace level determination of bromate in ozonated drinking water using ion chromatography, *J. Chromatogr. A,* 671 : 165.

E. Van Poppel et F. Timmermans (1994). Analyse du bromate par chromatographie ionique, *La Tribune de l'eau*, 47.

H. Weinberg (1994). Pre-concentration techniques for bromate analysis in ozonated waters, *Journal of Chromatography A*, 671 : 141.

H. Van Der Jagt *et al.* (1995). Analysis and identification of bromate in water by ion chromatography and multiple detection at the low-PPB level, *Water Supply*, 13 : 21.

B. Legube (1996). A survey of bromate ion in european drinking water, *Ozone : Science & Engineering*, 18 : 325.

B.K. Koudjounou *et al.* (1996). Formation des ions bromate lors de l'ozonation des ions bromure en présence de matières organiques. *Revue des Sciences de l'Eau*, 9 : 231.

A. Seubert et M. Nowak (1998). Trace analysis of bromate in drinking waters by means of on-line coupling IC-ICP-MS, *Fresenius'Journal of Analytical Chemistry,* 360 : 777.

H.P. Wagner *et al.* (1999). Analysis of 500-ng/l of bromate in drinking water by direct-injection suppressed ion chromatography coupled with a single pneumatically delivered post column reagent, *Journal of Chromatography A*, 850 : 119.

B. Legube (2001). Les bromates : inventaires et préconisations, *Techniques Sciences et Méthodes, 6 : 70.*

S. Echigo *et al.* (2001). Comparison of three post-column reaction methods for the analysis of bromate and nitrite in drinking water, *Journal of Chromatography A*, 920 : 205.

S. Bouland *et al.* (2002). Bilan sur les méthodes d'analyse des ions bromate dans l'eau, *Spectra 2000 analyse*, 31 : 22.

S.A. Snyder *et al.* (2005). Trace analysis of Bromate, Chlorate, Iodate and Perchlorate in natural and bottled waters, *Environmental Science and Technology*, 39 : 4586.

Bromure

W.J. Masschhelein and M. Denis (1981). The specific determination of bromoide in natural waters, *Water Research* 15 : 867.

J.C. Kruithof a, d R.T. Meijers (1993). Presence and formation of bromate in Dutch drinking waters treatment *AIDE-IWSA Worshop*, Paris, France, 22-24 novembre 1993.

B.K. Koudjounou *et al.* (1996). Formation des ions bromate lors de l'ozonation des ions bromure en présence de matières organiques. *Revue des Sciences de l'Eau*, 9 : 231.

R. Song (1999). Modeling and risk analysis of bromate formation from ozonation of bromide-containing waters, *Water Science and Technology*, 34 : 79.

B. Legube *et al.* (2001). Les bromates : inventaires et préconisations, *Techniques Sciences et Méthodes,* 6 : 70.

I.M. Cuccovia *et al.* (2001). Analysis of the Bromide Ion Distribution in the water Pool of Reverse Micelles of Hexadecyltrimethylammonium Bromide in Chloroform/n-Dodecane and Isooctane/n-Hexanol by Chemical Trapping, *Langmuir*, 17 : 1060.

Cadmium

J. Ganotes, E. Larson, R. Navone (1962). Suggested dithizone method for cadmium determination. *J.A.W.W.A.,* **54**, (7), p. 852.

A. Montiel, B. Welte, J. Carre (1981). Contribution à l'étude des interférences et pollutions lors du dosage par A.A. des éléments minéraux à l'état de trace dans les eaux au niveau de quelques microgrammes. *Analusis,* **9**, (1) et (2), p. 1-13.

J. Ranchet et coll. (février 1982). Essais interlaboratoires : dosage de Cd, Cr, Cu et Pb dans des solutions synthétiques par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme. *Analusis,* **10**, p. 71-77.

A.K. Singh et B.K. Ratnam (1989). Spectrophotometric determination of cadmium with dithizone in water analysis-Improvement in sensitivity by surfactant-induced sensitization, *Microchemical Journal*, 39 : 241.

D. Yen *et al.* (1989). Ion-chromatographic trace analysis of mercury cadmium and zinc by post-column derivatisation with a water-soluble porphyrin, *Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie*, 334 : 507.

K. Ohta *et al.* (1992). Determination of cadmium in river water by sequential metal vapor elution analysis, *Talanta*, 39 : 1643.

K. Zhang *et al.* (1996). Determination of copper and cadmium in water by continuous flow analysis, *Journal of West China University of Medical Science*, 27 : 325.

Calcium

J. Rodier, C. Graude (1952). Détermination de la dureté dans les eaux par la méthode au complexon III. *Bull. Institut d'Hygiène du Maroc*, N.S. **XII**, (3-4), p. 275.

H. Diehl, J. L. Ellingboe (1956). Indicator for titration of calcium in presence of magnesium using disodium dihydrogen ethylenediamine tetraacetate. *Anal. Chem.,* **28**, (5), p. 882.

H. Katz, R. Navone (1964). Method for simultaneous determination of calcium and magnesium, *J.A.W.W.A.*, 1, p. 56.

F. Canete *et al.* (1987). Determination of analytical parameters in drinking water by flow injection analysis. Part 2.Simultaneous determination of calcium and magnesium, *Analyst*, 112 : 267.

P.L. Kempster *et al.* (1988). Determination of calcium in waters by flow injection analysis-inductively coupled plasma (FIA-ICP) emission spectrometry, *Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie,* 2 : 153.

T.J. Cardwell *et al.* (1990). Determination of calcium in waters, milk and wine by discontinuous-flow analysis, *Analyst*, 115 : 1235.

Carbonate et bicarbonate

J. F. J. Thomas, J. J. Linch (1960). Determination of carbonate alkalinity in natural waters. *J.A.W.W.A.*, **52**, p. 259.

S.R. Jenkins and R.C. Moore (1977). A proposed modification to the classical method of calculating alkilinity in naturel waters. *J. Amer. Water Works Assoc.*, 69 : 56.

M. Oshima *et al.* (2001). Highly sensitive determination method for total carbonate in water samples by flow injection analysis coupled with gas-diffusion Separation, *Analytical Sciences*, 17 : 1285.

Y. Wei *et al.* (2005). Determination of total inorganic carbonate in water samples by a novel gas diffusion unit coupled with flow injection analysis, Chemical Journal on Internet, 7, (12).

Chlorates

P. Urone, E. Bonde (1960). Colorimetric determination of chlorates in well waters. *Anal. Chem.,* **32**, (12), p. 1966.

A.M. Dietrich *et al.* (1992). Determination of chlorite and chlorate in chlorinated and chloraminated drinking water by flow injection analysis and iron chromatography, *Analytical Chemistry*, 64 : 496.

S.A. Snyder *et al.* (2005). Trace analysis of bromate, chlorate, iodate and perchlorate in natural and bottled waters, *Environmental Science and Technology*, 39 : 4586.

Chlorites

A.M. Dietrich *et al.* (1992). Determination of chlorite and chlorate in chlorinated and chloraminated drinking water by flow injection analysis and iron chromatography, *Analytical Chemistry*, 64 : 496.

T. Winkler *et al.* (2006). Continuous analysis of chlorite in the long distance water supply [Kontinuierliche Chloritkontrolle bei der Fernwasserversorgung], GWF, Wasser-Abwasser, 147 : 787.

Chlorures

F. E. Clarke (1950). Determination of chloride in water, *An. Chem.,* **22**, p. 553-1458.

J.E. O'Brien (1962). Automatic analysis of chlorides in sewage. *Wastes Eng.*, 33 : 670.

F. Sagara *et al.* (1992). Determination of chloride ion concentration in natural and waste waters by flow-injection analysis with a silver chloranilate column, *Analytical Chimica Acta*, 270 : 217.

A.T. Haj-Hussein (1996). Ultraviolet determination of chloride in water by flow injection analysis, *Analytical Letters*, 29 : 793.

T.P. Aleksandrova et YU.B. Kletenik (1997). Voltammetric analysis of chloride ions in natural, potable, and effluent waters using a renewable silver electrode, *Industrial Laboratory*, 63 : 581.

YU.G. Vlasov *et al.* (1997). Flow-injection analysis of natural waters with a chloride-selective electrode, *Journal of Analytical Chemistry*, 52 : 81.

J.F. Van Staden et S.I. Tlowana (2001). Spectrophotometric determination of chloride in mineral and drinking waters using sequential injection analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 371 : 396.

R.B.R. Mesquita *et al.* (2002). Turbidimetric determination of chloride in different types of water

using a single sequential injection analysis system, *Journal of Environmental Monitoring*, 4 : 458.

Chromates et chrome

B. E. Saltzman (1952). Microdetermination of chromium with diphenylcarbazide by permanganate oxydation. *Anal. Chem.,* **24**, p. 1016.

M. Lieber (1956). Permanganate azide-test for total chromium in water. *J.A.W.W.A.,* **40**, (3), p. 295.

J. Ranchet et coll. (février 1982). Essais interlaboratoires : dosage de Cd, Cr, Cu et Pb dans des solutions synthétiques par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme. *Analusis,* **10**, p. 70-77.

K.W. Edgel *et al*. (1994). Determination of dissolved hexavalent chromium in drinking water, ground water and industrial wastewater effluents by ion chromatography : Collaborative study. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.,* 77 : 994.

R. Escobar *et al*. (1995). Determination of trivalent and hexavalent chromium in waste water by flow injection chemiluminescence analysis, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry,* 61 : 169.

U.S. Environmental Protection Agency (1996). Determination of hexavalent chromium by ions chromatography. Method 1636. *EPA 821-R-96-003, U.S. Environmental Protection Agency,* Washington D.C.

A. Bassimane *et al*. (1997). Optimisation de l'analyse du chrome par absorption atomique sans flamme et étude d'interférences, *Analusis (Paris)*, 25 : 168.

S. Matsuoka *et al*. (1999). Flow analysis of micro amounts of chromium (III) and (VI) in natural water by solid phase spectrophotometry using diphenylcarbazide, *Analyst*, 124 : 787.

M. Pantsar-Kallio et P.K.G. Manninen (1999). Optimizing ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry for speciation analysis of arsenic chromium and bromine in water samples, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 75 : 43.

J.W. Ball et R.L. Bassett (2000). Ion exchange separation of chromium from natural water matrix for stable isotope mass spectrometric analysis, Chemical Geology, 168 : 123.

L. Yang *et al*. (2001). Determination of chromium (VI) and lead (II) in drinking water by electrokinetic flow analysis system and graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 55 : 271.

S.R. Burge *et al*. (2005). Automated ground-water sampling and analysis of hexavalent chromium using a « universal » sampling/analytical system, *Sensors*, 5: 38.

Y. Ren *et al*. (2007). Speciation analysis of chromium in natural waters samples by electrothermal atomic absorbance spectrometry after separation/preconcentration with nanometer sized zirconium oxide immobilized on silica gel, *Microchimica Acta*, 158 : 227.

M. Grabarczyk (2008). Speciation analysis of chromium by adsorptive stripping voltammetry in tap and river water samples, *Electroanalysis*, 20 : 2217.

Cobalt

R.E. Taljaard et J.F.V. Staden (1998). Simultaneous determination of cobalt (II) and Ni (II) in water and soil samples with sequential injection analysis, *Analytical Chimica Acta*, 366 : 177.

O.A. Farghaly (2003). Direct and simultaneous voltammetric analysis of heavy metals in tap water samples at Assiut city : An approche to improve the analysis time for nickel and cobalt determination at mercury film electrode, *Microchemical Journal*, 75 : 119.

Cuivre

G. F. Smith, W. J. McCurdy (1952). 2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline ; new specific in spectrophotometric determination of copper. *Anal. Chem.,* **24**, p. 371.

A. R. Gahler (1954). Colorimetric determination of copper with neocuproine. *Anal. Chem.,* **28**, p. 174.

D. Blair and H. Dielh (1961). Bathophenanthroline disulfonic acid and bathocuproine disulfonic acid, water soluble reagents for iron and copper. *Talanta*, 7 : 163.

J. Ranchet et coll. (février 1982). Essais interlaboratoires ; dosage de Cd, Cr, Cu et Pb dans des solutions synthétiques par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme. *Analusis*, **10**, p. 71-77.

C. Zhang *et al.* (1998). Determination of copper ions in waters by electrochemical stripping chemiluminescence analysis in situ, *Analyst*, 123 : 1383.

Y. Sakai *et al.* (1998). Determination of trace copper in water samples by neutron activation analysis preceded by preconcentration on activated carbon powdered, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 230 : 261.

P. Breuil *et al.* (1998). Analyse en ligne du cuivre et du zinc dans les effluents industriels par spectrométrie UV-visible, *Analusis*, 26 : 8.

M. El Makhfouk *et al.* (2003). Analyse de la fraction labile du zinc, cadmium, plomb et du cuivre dissous en milieu marin côtier par la redissolution anodique à impulsions différentielles, Comptes rendus. Chimie, 6 : 689.

S. Lunvongsa *et al.* (2006). Sequential determination of trace amounts of iron and copper in water samples by flow injection analysis with catalytic spectrophotometric detection, *Analytical Sciences*, 22 : 169.

H.W. Gao *et al.* (2007). Continuous flow analysis combined with a light absorption ratio variation approach for determination of copper at ng/ml level in natural water, *Analytical Sciences*, 23 : 655.

Cyanures

Voir bibliographie de la partie D.

Étain

P. Hocquellet, N. Labeyrie (1975). L'étude de l'atomisation thermoélectrique sur carbure de tantale du silicium, du germanium, de l'étain et du plomb. *Analusis*, **3,** (9), p. 505-512.

R. Pinel (1991). L'analyse des organometalliques en traces dans l'eau : Arsenic, Etain Mercure et Plomb, *Analusis* (paris), 19 : 2.

G.B. Jiang et F.Z. Xu (1996). Speciation analysis of butyltin species in water by gas chromatography with flame photometric detection using quartz surface induced tin emission, *Applied Organometallic Chemistry*, 10 : 77.

M. Ceulemans et F.C. Adams (1996). Integrated sample preparation and speciation analysis for the simultaneous determination of methylated species of tin, lead and mercury in water by purge and trap injection capillary gas chromatography atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11 : 201.

G. Centineo *et al.* (2004). Multielemental speciation analysis of organometallic compounds of mercury, lead and tin in natural water samples by headspace solid phase microextraction followed by gas chromatography mass spectrometry, *Journal of ChromatographyA*, 1034 : 191.

J. Munoz *et al.* (2005). Speciation analysis of mercury and tin compounds in water and sediments by gas chromatography mass spectrometry following preconcentration on C 60 fullerene, *Analytical Chimica Acta*, 548 : 66.

X. Zhu *et al.* (2006). Cloud point extraction for speciation analysis of inorganic tin in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 21 : 69.

Fer

R. Buydens et R. Muylle (1952). Dosage du fer dans les eaux. *C.B.E.D.E.,* **IV**, (18), p. 241.

D. Blair and H. Dielh (1961). Bathophenanthroline disulfonic acid and bathocuproine disulfonic acid, water soluble reagents for iron and copper. *Talanta*, 7 : 163.

M.T. Doig and D.F. Martin (1971). Effect of humic acids on iron analyses in natural water. *Water Res.,* 5 : 689.

W.R. Seitz and D.M. Hercules (1972). Determination of trace amounts of iron (II) using chemiluminescence analysis. *Anal. Chem.,* 44 : 2143.

N. Ohno et T. Sakai (1987). Spectrophotometric determination of iron in boiler and well waters by flow injection analysis using 2-nitroso-5- (n-propyl-n-sulphopropylamino) phenol, The *Analyst*, 112 : 1127.

A.N. Tripathi *et al.* (1997). Flow injection analysis of iron in rain water with thiocyanate and surfactant, *Journal of Automatic Chemistry*, 19 : 45.

S. Hirata *et al.* (1999). Determination of iron (II) and total in environmental water samples by flow injection analysis with column preconcentration of chelating resin functionalized with

N-hydroxyethylethylenediamine ligands and chemiluminescence detection, Talanta, 49 : 1059.

M.J. Pullin et S.E. Cabaniss (2001). Colorimetric flow injection analysis of dissolved iron in high DOC waters, *Water Research*, 35 : 363.

A.M. Sofikitis *et al.* (2004). Iron analysis in atmospheric waters samples by atomic absorption spectroscopy (AAS) in water-methanol, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378 : 460.

C. Pons *et al.* (2005). The use of anion-exchange disks in an optrode coupled to a multi syringe flow injection system for the determination and speciation analysis of iron in natural water samples, *Talanta*, 66 : 210.

S. Lunvongsa *et al.* (2006). Determination of total and dissolved amount of iron in water samples using catalytic spectrophotometric flow injection analysis, *Talanta*, 68 : 969.

Fluorures et Fluor

R. Greenhalgh, J. P. Riley (1961). The determination of fluorides in natural waters with particular references to sea water. *Analytica Chimica Acta,* 1961, **25**, p. 179-188.

L. H. Weinstein, R. H. Mandl, D. C. McCune, J. S. Jacobson, A. E. Hitchcock (1965). Simplified semi-automated analysis of fluoride. Technicon Symposium on « Automation in Analytical Chemistry », New York, sept. **8**. Technicon, Ardsley (Chauncey), N.Y. 10502.

M. S. Frant, J. W. Ross (1968). Use of total ionic strengh adjustement buffer to electrode determination of fluoride in water supplies. *Anal. Chem.,* **40**, p. 1169.

J.E. Harwood (1969). The use of an ion-selective electrode for routine analysis of water samples. *Water Res.*, 3 : 273.

F. Erb, J. M. Haguenoer, A. Brice, M. Hanquez (1973). Pollution fluorée des eaux de surface dans la région du nord de la France. *Bull. Ass. Pharm. Fr. Hydro.,* **10**.

J.H. Berg et L.L. Moorrees (1989). Fluoride in our drinking water-analysis and supplementation, *Journal Houston District Dental Society*, 60 : 17.

A.T. Haj-Hussein et I.F. Al-Momani (1989). Indirect spectrophotometric determination of fluoride in water with zirconium-SPADNS by flow injection analysis, *Analytical Letters*, 22 : 1581.

J. Alpizar *et al.* (1996). Simultaneous determination of chloride and Fluoride ions in waters by sequential injection analysis, *Electroanalysis*, 8 : 1051.

M.A.G.T Van Den Hoop *et al.* (1996). Analysis of fluoride in rain water. Comparaison of capillary electrophoresis with ion chromatography and ion-selective electrode potentiometry, *Journal of Chromatography A*, 739 : 241.

Y. Khayat-Bizri et M. Bizri (1999). Analyse chimique des eaux naturelles de la région du sud-liban ; contrôle et dosage du Fluor par potentiométrie dans l'eau potable, *Cahiers de l'Association scientifique europeenne pour l'eau et la santé*, 4 : 15.

E.V. Vanchikova et E.A. Kun (2001). Comparative analysis of metrological characteristics of potentiometric and photometric methods of fluoride ion determination in water, *Zavodskaya Laboratoriya Diagnostika Materialov*, 67 : 12.

M.S. Kadam *et al.* (2007). Analysis of drinking water from rural area of parbhani Districtn Maharashtra, India for fluorides, *Pollution Research*, 26 : 257.

Gallium

V.A. Burakhta (2003). Electrodes on the base of gallium arsenide and antimonide for natural water analysis, *Zavodskaya Laboratoriya Diagnostika Materialov*, 69 : 15.

Germanium

R.Q. Aucelio *et al.* (1997). Electrothermal atomization laser excited atomic fluorescence spectrometry for direct analysis of germanium in water and blood samples, Analytical Chimica Acta, 350 : 231.

Iodures et Iode

A.P. Black and G.P. Whittle (1967). New methods for the colorimetric determination of halogen residuals. Part I. Iodine, iodide and iodate. *J. Amer. Water Works Assoc.*, 59 : 471.

A. Date, M. Stuart (1988). Application of ICP-MS to the simultaneous determination of chlorine, bromine and iodine in National Bureau of Standards. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* p. 659-665.

G.T.F. Wong and L.S. Zhang (1992). Determination of total inorganic iodine in seawater by cathodic stripping square wave voltammetry. *Talanta,* 39 : 355.

K. Oguma *et al.* (1993). Microchemical determination of iodate and iodide in sea waters by flow injection analysis, *Mikrochimica Acta*, 110 : 71.

C.K. Chandrawanshi *et al.* (1996). Flow analysis determination of iodide at nanogram levels in water, *Journal of Automatic Chemistry*, 18 : 181.

H. Ozakay *et al.* (1998). Determination of iodide in drinking water by isotope dilution analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 230 : 231.

E.A. Arafa *et al.* (2000). Determination of iodine inunderground drinking water by radiochemical neutron activation analysis, *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 18 : 137.

C. Bruggink *et al.* (2007). Iodide analysis by anion-exchange chromatography and pulsed amperometric detection in surface water and adsorbable organic iodide, *Journal of Chromatography A*, 1144 : 170.

P. Unak *et al.* (2007). Iodine measurements by isotope dilution analysis in drinking water in Western Turkey, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 273 : 649.

Lithium

M. J. Fishman, M. W. Skougstad (1964). Catalytic determination of vanadium in water. *Anal. Chem.,* **36**, (8), p. 1643.

S. Lomperski *et al.* (1993). Lithium/water interactions : experiments and analysis, *Fusion Technology*, 24 : 5.

M. Tabata *et al.* (1998). Trace analysis of lithium with a water soluble porphyrin, *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 32 : 267.

S.F. Lee et S.A. Sherfit (2001). Thermodynamic analysis of a lithium bromide/water absorption system for cooling and heating applications, *International Journal of Energy Research*, 25 : 1019.

H. Okamoto *et al.* (2003). Trace ion analysis of sea water by capillary electrophoresis : Determination of strontium and lithium pre-concentrated by transient isotachophoresis, *Analyst*, 128 : 1439.

Magnésium

F. Canete *et al.* (1987). Determination of analytical parameters in drinking water by flow injection analysis. Part 2. Simultaneous determination of calcium and magnesium, *Analyst*, 112 : 267.

A.J. Downard *et al.* (1992). Amperometric techniques in flow-injection analysis : Determination of magnesium in sera and natural waters, *Analytica Chimica Acta,* 269 : 41.

Z. Chen et M.A. Adams (1998). *A metallic cobalt electrode for the indirect potentiometric determination of calcium and magnesium in natural waters using flow injection analysis*, Talanta, 47 : 779.

S. Motellier *et al.* (2000). Quantitative capillary electrophoretic analysis for calcium and magnesium in sodium-matrix waters, *Analytica Chimica Acta*, 410 : 11.

K. Watanabe *et al.* (2003). Fluorometric analysis of a trace amount of magnesium in distilled water by on-line preconcentration using a PTFE capillary tube, *Bunseki Kagaku*, 52 : 55.

Manganèse

J.J. Delfino and G.F. Lee (1969). Colorimetric determination of manganese in lake waters. Environ. Sci. Technol., 3 : 761.

T.P. Chapin *et al.* (1991). Rapid determination of manganese in sea water by flow-injection analysis with chemiluminescence detection, Analytica Chimica Acta, 249 : 469.

C.S. Chin *et al.* (1992). Spectrophotometric determination of dissolved manganese in natural waters with 1- (2-pyridylazo)-2-naphthol : application to analysis in situ in hydrothermal plumes, Marine Chemistry, 37 : 65.

M. Zaw et B. Chiswell (1995). Speciation of iron and manganese in dam water particles using electron spectroscopy for chemical analysis (ESCA), Talanta, 42 : 27.

E.B. Naidoo et J.F. Van Staden (2001). Solid-phase reactors in sequential injection analysis. Determination of manganese (II) in tap water and effluent streams using a solid-phase lead (IV) dioxide reactor in a sequential injection system, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 370 : 776.

S.B. Sarmani *et al.* (2004). Preconcentration of trace manganese from natural waters by complexation with dithiocarbamate and adsorption onto C18-solid phase extraction column for neutron activation analysis, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 259 : 257.

A. Barats *et al.* (2008). High-frequency archives of manganese inputs to coastal waters (Bay of Seine, France) resolved by the LA-ICP-MS analysis of calcific growth layers along scallop shells (Pecten maximus), Environmental Science and Technology, 42 : 86.

Mercure

G. Cumont (octobre 1971). Dosage du mercure par spectrophotométrie d'absorption atomique. *Chimie Analytique,* **534**, (10), p. 634.

M. Boucetta, J. Fritsche, J. Greffard (juillet 1972). Utilisation de l'absorption atomique pour l'analyse des eaux. Dosage du mercure. *Bull. Ass. Pharm. Hydro.* **8**, p. 37.

A. Montiel (1972). Dosage du mercure dans les eaux par absorption atomique sans flamme. *Analusis,* **1**, (1), p. 66.

A.A. Stevens. E.A. Robertson (1974). *Determination of methylmercury in water.* Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 2, n° 3. Ed. Springer-Verlag New York Inc.

M. Hatle (1987). Determination of mercury by differential-pulse anodic-stripping voltammetry with various working electrodes. Application to the analysis of natural water sediments, *Talanta*, 34 : 1001.

D. Yan *et al.* (1989). Ion-chromatographic trace analysis of mercury, cadmium and zinc by post-column derivatisation with a water-soluble porphyrin, *Fresenius'Zeitschrift für Analytische Chemie*, 334 : 507.

R. Pinel (1991). L'analyse des organométalliques en traces dans l'eau : Arsenic, Etain, Mercure et Plomb, *Analusis (Paris),* 19 : 2.

M.J. Powell *et al.* (1992). Inductively coupled plasma mass spectrometry with direct injection nebulization for mercury analysis of drinking water, *Analytical Chemistry*, 64 : 2253.

R. Shi *et al.* (1997). Determination of mercury in process and lagoon waters by inductively coupled plasma-mass spectrometric analysis after electrochemical preconcentration : Comparison with anodic stripping at gold and polymer coated electrodes, *Analytica Chimica Acta*, 434 : 291.

R. Shi *et al.* (1997). Determination of mercury (II) traces in drinking water by inhibition of an urease reactor in a Flow Injection Analysis (FIA) system, *Fresenius'Journal of Analytical Chemistry*, 357 : 752.

M. Rievaj et D. Bustin (2001). IDA microelectrode – A suitable sensor for ultra-trace analysis of mercury in water, *Chemical Papers,* 55 : 175.

O.A. Farghaly (2003). Direct and simultaneous voltammetric analysis of heavy metals in tap water samples at Assiut city : An approach to improve the analysis time for nickel and cobalt determination at mercury film electrode, *Microchemical Journal,* 75 : 119.

G. Centineo *et al.* (2004). Multielemental speciation analysis of organometallic compounds of mercury, lead and tin in natural water samples by headspace-solid phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1034 : 191.

P. Pohl et B. Prusisz (2004). Preconcentration of mercury using Duolite GT-73 in the analysis of water samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analytical Sciences*, 20 : 1367.

A.M.H. Shabani *et al.* (2004). Speciation analysis of mercury in water samples by cold vapor atomic absorption spectrometry after preconcentration with dithizone immobilized on microcrystalline naphthalene*, Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378 : 1388.

J. Manoz *et al.* (2005). Speciation analysis of mercury and tin compounds in water and sediments by gas chromatography-mass spectrometry following preconcentration on C 60 fullerene, *Analytica Chimica Acta*, 548 : 66.

M. Monperrus *et al.* (2005). Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 381 : 854.

T. Hashempur *et al.* (2008). Speciation analysis of mercury contaminants in water samples by RP-HPLC after solid phase extraction on modified C18 extraction disks with 1,3-bis (2-cyanobenzene) triazene, *Microchemical Journal*, 89 : 131.

J. Margetinova *et al.* (2008). Speciation analysis of mercury in sediments, zoobenthos and river water samples by high-performance liquid chromatography hyphenated to atomic

fluorescence spectrometry following preconcentration by solid phase extraction, *Analytica Chimica Acta*, 615 : 115.

Nickel

E.R. Oskotskaya *et al.* (1999). Group preconcentration of copper, cobalt, and nickel by a polymer chelate sorbent in analysis of natural waters, *Industrial Laboratory*, 65 : 148.

Nitrates et Nitrites

F.A.J. Armstrong (1963). Determination of nitrates by ultraviolet absorption. *Anal. Chem.*, 35 : 1292.

L. Kamphake *et al.* (1967). Automated ana lysis for nitrate by hydrazione reduction. *Water Res.,* 1 : 205.

E. D. Wood *et al.* (1967). Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.,* 47 : 23.

D. Langmuir and R. I. Jacobson (1970). Specific ion electrode determination of nitrate in some fresh waters and sewage effluents. *Environ. Sci. Technol.,* 4 : 835.

E. M. Burke *et al.* (1989). The evaluation and comparison of ion chromatography, segmented flow analysis and flow injection analysis for the determination on nitrate in natural surface waters, *Water Research*, 23 : 519.

W.G. Crumpton *et al.* (1992). Nitrate and organic N analyses with second-derivative spectroscopy. *Limnol. Oceanogr.,* 37 : 907.

S.C. Pai et J.P. Riley (1994). Determination of nitrate in the presence of nitrite in natural waters by flow injection analysis with a non-quantitative on-line cadmium redactor, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry,* 57 : 263.

R. Segarra Guerrero *et al.* (1996). Flow-injection analysis-spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in water samples by reaction with proflavin, *Talanta*, 43 : 239.

T. Aoki *et al.* (1997). Rapid flow injection analysis method for successive determination of ammonia, nitrite, and nitrate in water by gas-phase chemiluminescence, *Analytica Chimica Acta*, 349 : 11.

H. Chen *et al.* (2000). Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in water samples by flow-injection analysis, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 76 : 89.

Z. Legnerova *et al.* (2002). Automated simultaneous monitoring of nitrate and nitrite in surface water by sequential injection analysis, *Water Research*, 36 : 2777.

Y. Kanda et M. Taira (2003). Flow-injection analysis method for the determination of nitrite and nitrate in natural water samples using a chemiluminescence NOx monitor, *Analytical Sciences,* 19 : 695.

P. Mikuska et Z. Vecera (2003). Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water by chemiluminescent flow-injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, 495 : 225.

M.I.C. Monteiro *et al.* (2003). Simplified version of the sodium salicylate method for analysis of nitrate in drinking waters, *Analytica Chimica Acta*, 477 : 125.

S. Biswas *et al.* (2004). A novel spectrofluorimetric method for the ultra trace analysis of nitrite and nitrate in aqueous medium and its application to air, water, soil and forensic samples, *Talanta*, 64 : 308.

E. Santos *et al.* (2004). Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water by chemiluminescent flow-injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, 495 : 225.

P.C.A.G. Pinto *et al.* (2005). An enzymatic flow analysis methodology for the determination of nitrates and nitrites in waters, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 85 : 29.

W.H. Campbell *et al.* (2006). Nitrate reductase for nitrate analysis in water, *Environmental Chemistry Letters*, 4 : 69.

K.L. Casciotti *et al.* (2007). Isotopic analyses of nitrate and nitrite from reference mixtures and application to Eastern Tropical North Pacific waters, *Marine Chemistry*, 107 : 184.

Phosphates

G. Van Beneden (1957). Application d'un dosage colorimétrique de phosphore aux eaux additionnées de polymétaphosphates. *C.B.E.D.E.,* Bull. trimestriel, **I**, (35), p. 33.

J. Murphy, J. Riley (1962). A modified single solution for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta,* **27**, p. 30.

G. Proft (1964). Determination of total phosphorus in water and wastewater as molybdo-vanado-phoshoric acid. *Limnologica*, 2 : 407.

A. Henriksen (1966). An automatic method for determining orthophosphate in sewage and highly polluted waters. *Analyst,* 91 : 652.

J.J. Pauer *et al.* (1988). Determination of phosphate at low concentrations in surface waters by flow-injection analysis, *Water S. A*, 14 : 125.

F. Mas *et al.* (1990). Determination of phosphate in waters by flow injection analysis*, Water, Air, and Soil Pollution*, 52 : 359.

M. Pantsar-Kallio et P.K.G. Manninen (1995). Application of capillary electrophoresis in the analysis of phosphate in lake water, *Chemosphere*, 31 : 3699.

J.F. Van Staden et R.E. Taljaard (1998). On-line Monitoring of Phosphate in Natural Water and Effluent Streams Using Sequential Injection Analysis, *Mikrochimica Acta*, 128 : 223.

J.Z. Zhang *et al.* (2001). Continuous flow analysis of phosphate in natural waters using hydrazine as a reductant, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 80 : 61.

C. Frank *et al.* (2006). Using sequential injection analysis for fast determination of phosphate in coastal waters, *Talanta,* 70 : 513.

■ Plomb

J. Ranchet et coll. (février 1982). Essais interlaboratoires : dosage de Cd, Cr, Cu et Pb dans des solutions synthétiques par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme. *Analusis,* **10**, p. 71-77.

R. Pinel (1991). L'analyse des organométalliques en traces dans l'eau : Arsenic, Etain, Mercure et plomb, *Analusis (paris)*, 19,2.

P. Leroy, L. Le Genti (1992). Influence des conditions de soutirage sur la teneur en plomb de l'eau issue d'un réseau en plomb. *Journ. français d'Hydrologie,* **23**, (2), p. 171-181.

R. Lobinski et F.C. Adams (1992). Sensitive speciation analysis of lead in environmental waters by capillary gas chromatography microwave induced plasma atomic emission spectrometry, *Analytical Chimica Acta*, 262 : 285.

M. Ceulemans et F.C. Adams (1996). Integrated sample preparation and speciation analysis for the simultaneous determination of methylated species of tin, lead and mercury in water by purge and trap injection capillary gas chromatography atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11 : 201.

N.N. Basargin *et al.* (1998). Group concentration and determination of zinc, cadmium, and lead in the analysis of potable and natural water, *Industrial Laboratory*, 64 : 765.

K.J. Bundy et D. Berzins (1998). Differential pulse polarographic analysis of lead and chromium content in Louisiana waters, *Environmental Geochemistry and Health*, 20: 45.

L. Yang *et al.* (2001). Determination of chromium (VI) and lead (II) in drinking water by electrokinetic flow analysis system and graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 55 : 271.

M. El Makhfouk *et al.* (2003). Analyse de la fraction labile du zinc, cadmium, plomb et du cuivre dissous en milieu marin cotier par la redissolution anodique a impulsions différentielles, *Comptes rendus. Chimie*, 6 : 689.

G. Centineo *et al.* (2004). Multielemental speciation analysis of organometallic compounds of mercury, lead and tin in natural water samples by headspace solid phase microextraction followed by gas chromatography mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1034 : 191.

A. Baysal *et al.* (2008). A novel slurry sampling analysis of lead in different water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after coprecipitated with cobalt/pyrrolidine dithiocarbamate complex, *Journal of Hazardous Materials*, 158 : 454.

■ Plutonium

Voir bibliographie du chapitre A-8.

■ Radium

Voir bibliographie du chapitre A-8.

J.R. Twinning (1989). Principal coordinate analysis of the distribution of radium-226 between

water, sediment and the waterlily, Nymphaea violacea (Lehm), in the vicinity of a uranium mine in the Northern Territory, Australia, *Journal of Environmental Radioactivity*, 10 : 99.

C.E. Guse *et al.* (2002). Radium in drinking water : An analysis of osteosarcoma risk, *occupational and Environmental Medicine*, 53 : 305.

S. Purkl et A. Eisenhauer (2003). A rapid method for a spectrometric analysis of radium isotopes in natural waters using ion-selective membrane technology, *Applied Radiation and Isotopes,* 59 : 245.

K. Soderberg et R. J-C. Hennet (2007). Uncertainty and trend analysis Radium in ground water and drinking water, *Ground Water Monitoring and Remediation*, 27 : 122.

K.A. Aleissa *et al.* (2008). Radium-228 analysis of natural waters by Cherenkov counting of Actinium, *Applied Radiation and Isotopes*, 66 : 1954.

Sélénium

K. G. Brodie (mars 1977). *A comparative study. Determining arsenic and selenium by AAS*. American Laboratory.

G. Maire, M. Fleury (mai-juin 1978). Dosage de l'arsenic et du sélénium dans l'eau par spectroscopie d'absorption atomique. Méthode de dégagement des hydrures. *Bulletin de liaison des Ponts et Chaussées,* p. 150-152.

H. Robberecht and R. Van Grieken (1982). Selenium in environmental waters : Determination, speciation and concentration levels. *Talanta*, 29 : 823.

S.P. Brimmer *et al.* (1987). Quantitative reduction of selenate ion to selenite in aqueous samples. *Anal. Chem.,* 59 : 1470.

K.M. Holtzclaw *et al.* (1987). A sensitive colorimetric method for the quantification f selenite in soil and natural waters. *Soil Sci. Soc. Amer. J.,* 51 : 75.

R.L. Adkins *et al.* (1995). Inductively coupled plasma atomic emission spectrometric analysis of low levels of selenium in natural waters, *The analyst*, 120 : 1433.

P. Thomas (1997). Intérêt du couplage HPLC-ICP-MS-Etude des formes chimiques de l'arsenic et du sélénium dans l'eau – Vers une utilisation en analyse de routine, *Analusis*, 25,2.

P.J. Steinhoff *et al.* (1999). Analysis of interlaboratory performance in the determination of total selenium in water, *Journal of AOAC International*, 82 : 1466.

F.A. Bertolino *et al.* (2006). Speciation analysis of selenium in natural water using square wave voltammetry after preconcentration on activated carbon, *Analytical Chimica Acta*, 572 : 32.

J. Darrouzes *et al.* (2006). Optimisation d'un ICPMS à cellule de collision/réaction pour l'analyse de l'arsenic et du sélénium dans les eaux naturelles, *Journal Européen d'Hydrologie,* 37 : 65.

J. Chwastowska *et al.* (2007). Speciation analysis of selenium in mineral waters by graphite furnace atomic absorption spectrometry after separation on dithizone sorbent, *Chemia Analityczna*, 52 : 253.

A. Bidari *et al.* (2008). Selenium analysis in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on piazselenol formation and GC-ECD, *Microchimica Acta*, 163 : 243.

Silicates

F.A. Fanning and M.E.Q. Pilson (1973). On the spectrometric determination of dissolved silica in natural waters. *Anal. Chem.*, 45 : 136.

F. Mas-Torres *et al.* (1997). Simultaneous determination of phosphate and silicate in waste water by sequential injection analysis, *Analyst*, 122 : 1033.

A. Sabarudin *et al.* (2003). Novel flow injection fluorometric method for the determination of trace silicate and its application to ultrapurified water analysis, *Talanta*, 60 : 1277.

Sodium

J. Rodier, A. Poitoux, C. Graude (1952). Détermination du sodium et du potassium par photométrie de flamme. Application au dosage de ces éléments dans le sérum et dans les eaux. (Note technique). *Bull. de l'Inst. d'Hygiène du Maroc*, N.S., **XII**, (3-4), p. 279-283.

A.M. Ure and R.L. Mitchell (1975). Lithium, Sodium, Potassium, Rubidium and Cesium. *In J.A. Dean & T.C. Rains eds. Flame emission and atomic absorption spectrometry,* Dekker, New York, N.Y.9 : 823.

Strontium

T. J. Chow, T. G. Thompson (1955). Flame photometric determination of strontium in sea water. *Anal. Chem.*, **27**, p. 18-21.

C.A. Horr (1959). A survey of analytical methods for the determination of strontium in natural water. *U.S. Geol. Surv. Water Supply,* N° 1496A.

L.L. Knobel *et al.* (1992). Comparison of the effects of filtration and preservation methods on analyses for strontium-90 in ground water, *Environmental Monitoring and Assessment*, 20 : 67.

H. Okamoto *et al.* (2003). Trace ion analysis of sea water by capillary electrophoresis : Determination of strontium and lithium pre-concentrated by transient isotachophoresis, *Analyst*, 128 : 1439.

M.A. Flusche *et al.* (2005). Constraining water sources and hydrologic processes from the isotopic analysis of water and dissolved strontium, Lake Junin, Peru, *Journal of Hydrology*, 312 : 1.

Sulfates et Sulfites

R. B. Fischer, T. B. Rhinihammer (1953). Rapid precipitation of baryum sulfate, *Anal. Chem.,* **25**, p. 1544.

J. R. Rossum, P. A. Villaruz (1961). Suggested methods for turbidimetric determination of sulfate in water. *J.A.W.W.A.,* **53**, p. 873.

E. Coloros *et al.* (1976). Linearizing the calibration curve in determination of sulphate by the methylthymol blue method. *Anal. Chem.*, 48 : 1693.

T.K. Orenaga *et al.* (1998). Determination of sulfate in environmental water by spectrophotometric flow injection analysis, Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health, 44 : 49.

I.P.A. Morais *et al.* (2001). Determination of sulfate in environmental water by Turbidimetric flow injection analysis, *Journal of AOAC International*, 84 : 59.

D. Belle-Oudry (2008). Quantitative analysis of sulphate in water by indirect EDTA titration, *Journal of Chemical Education*, 85 : 1269.

Sulfures

I. Nusbaum (1965). Determining sulfides in water and waste water. *Water Sewage Works,* 112 : 113.

O. Simo *et al.* (1993). Field sampling and analysis of volatile reduced sulphur compounds in air, water and wet sediments by cryogenic trapping and gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, 655 : 301.

M. Miro *et al.* (2004). Application of flowing-stream techniques to water analysis : part II. General quality parameters and anionic compounds : Halogenated, sulphur and metalloid species, *Talanta*, 62 : 1.

Thallium

R. Cleven et L. Fokkert (1994). Potentiometric stripping analysis of thallium in natural waters, *Analytica Chimica Acta*, 289 : 215.

V.N. Oreshkin *et al.* (1996). Ultra-trace analysis for silver, bismuth and thallium in natural water by sorption atomic fluorescence with direct atomization of powdered concentrate, *Geochemistry International*, 34 : 1002.

N.N. Meeravali et S.J. Jiang (2008). Ultra-trace speciation analysis of thallium in environmental water samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after a novel sequential mixed micelle cloud point extraction, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 23 : 555.

Thiocyanate et Thiosulfate

R.S. Danchick and D.F. Boltz (1968). Indirect spectrophotometric and atomic absorption spectrometric methods in determination of thiocyanate. *Anal. Chem.*, 43 : 2215.

R.R. Spencer *et al.* (1980). Automated colorimetric determination of thiocyanate, thiosulfate and tetrathionate in water. *94th Annual Meeting. Assoc. Official Agricultural Chemists*, Washington, D.C.

A.N. Tripathi *et al.* (1997). Flow injection analysis determination of iron in rain water with thiocyanate and surfactant, *Journal of Automatic Chemistry*, 19 : 45.

R. Patel et K.S. Patel (1999). Flow injection analysis determination of thiocyanate in industrial waste water, *Chemia Analityczna*, 44 : 917.

MA.S. Garcia *et al.* (2006). Flow through bulk optode for spectrophotometric determination of thiocyanate and its application to water and saliva analysis, *Sensors*, 6 : 1224.

Thorium

P.F. Thomasson, M.A. Ferry, W.N. Byerley (1949). Détermination de quantités de thorium de l'ordre du µg, méthode colorimétrique. *Anal. Chem.,* **21**, p. 1239.

Raine, Marionferguson, H.T. House (1961). Separation of macroquantities of thorium with 2 thenoytrifluoracetone. *Anal. Chem.,* **33**, (12), p. 1645.

T.C. Aellen *et al.* (1993). The analysis of naturally occurring radioonuclides from uranium and thorium decay series in table mineral, *Science of the Total Environment*, 130-131 : 253.

M.T. Valentini Ganzerli *et al.* (2004). Preconcentration and neutron activation analysis of thorium and uranium in natural waters, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 262 : 143.

M.A. Misdaq *et al.* (2007). Analysis of radon, uranium 238 and thorium 232 in potable waters : Dose to adult members of the Moroccan urban population, *Nuclear Instruments and Methods in Physic Research, Section B : Beam Interactions with Materials and Atoms*, 263 : 105.

Titane

N.N. Basargin *et al.* (2000). Preconcentration of aluminum and titanium in analysis of natural and drainage waters using a new chelate sorbent, *Industrial Laboratory*, 66 : 297.

M. Kido *et al.* (2006). Fundamental analysis of pure titanium and its alloy corrosion and water wet ability in solution, *Nippon Kinzoku Gakkaishi/Journal of the Japan Institute of Metals*, 70 : 962.

Tritium

Voir bibliographie du chapitre A-8.

N. Matquoka *et al.* (1994). Meteorological analysis of tritium concentrations in rain water collected in Fukuoka, Japan from 1978-1991, *Science of the Total Environment*, 145 : 197.

H. Dworshak *et al.* (1995). Comparative analysis of tritium recovery methods from Pb-17Li water cooled blanket, *Fusion Technology*, 28 : 578.

M.P. Neary *et al.* (1997). Tritium analysis of Burn Derived water from natural and petroleum derived products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 : 2153.

J.E. Noakes *et al.* (1998). A remotely operated field deployable tritium analysis system for surface and ground water measurement system for surface and ground water measurement, *Radiocarbon*, 40 : 183.

U. Beyerle *et al.* (2000). A mass spectrometric system for the analysis of noble gases and tritium from water samples, *Environmental Science and Technology*, 34 : 2042.

M.A.P.V. Moraes *et al.* (2002). Tritium concentration analysis in environmental water samples of centro nuclear ARAMAR (CTMSP-Brazil), Radiation Measurements, 35 : 333.

Uranium

Voir bibliographie du chapitre A-8.

J. Havel *et al.* (1992). Fluorimetric determination of uranium (VI) in waters by flow injection analysis after Preconcentration on a silica gel microcolumn, *Talanta*, 39 : 795.

T.C. Aellen *et al.* (1993). The analysis of naturally occurring radionuclides from uranium and thorium decay series in table mineral waters, *Science of the Total Environment*, 130 : 253.

P.J. Jojo *et al.* (1994). Trace uranium analysis of water from the south west coastal region of India, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 178 : 245.

T. Kameyama *et al.* (1997). Analyses of burnup at plutonium spots in uranium-plotonium mixed oxide fuels in light water reactors by neutron transport and burnup calculations, *Journal of Nuclear Science and Technology*, 34 : 551.

S. Singh *et al.* (2001). Uranium analysis of geological samples water and plants from Kulu area, Himachel Pradesh, India, *Radiation Measurements*, 34 : 427.

S. Singh *et al.* (2003). Analysis of uranium and its correlation with some physico-chemical

properties of drinking water samples from Amritsar, Punjab, *Journal of Environmental Monitoring*, 5 : 917.

M.T. Valentini Ganzerli *et al*. (2004). Preconcentration and neutron activation analysis of thorium and uranium in natural waters, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 262 : 143.

A. Rani et S. Singh (2006). Analysis of uranium in drinking water samples using laser induced fluorimetry, *Health Physics*, 91 : 101.

A. Armid *et al*. (2008). Determination of uranium in pore water from coastal sediment by standard addition ICP-MS analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 275 : 233.

■ Vanadium

M. J. Fishman, M. W. Skougstad (1964). Catalytic determination of vanadium in water. *Anal. Chem.,* **36**, (8), p. 1643.

A. Montiel (1972). Origine de la présence du vanadium dans la Seine et dans les eaux de pluie à Paris. *Bull. de l'Assoc. Pharm. Franç. pour l'Hydrol.,* **9**, p. 25.

S. Kawakubo *et al*. (1996). Catalytic spectrophotometric determination of pictogram amounts of vanadium in natural fresh and tap water by flow injection analysis*, Analytical Sciences*, 12 : 237.

A.M. Shiller *et al*. (1998). Determination of dissolved vanadium in natural waters by flow injection analysis with colorimetric detection, *Limnology and Oceanography*, 43 : 526.

Z. Fan *et al*. (2005). Speciation analysis of vanadium in natural water samples by electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry after Separation/Preconcentration with thenoyltrifluoroacetone immobilized on microcrystalline naphthalene, *Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy*, 60 : 65.

J. Wei *et al*. (2008). Flow injection analysis for oxidation state speciation of vanadium (IV) and vanadium (V) in natural water, *Analytical Science*, 24 : 371.

■ Zinc

D. G. Miller (1979). Colorimetric determination of zinc with zincon and cyclohexanone. *J. Water pollut. Control. Fed.,* **51**, p. 2402.

B. Novruzi et J. Tolgyessy (1989). Determination of zinc in environmental water by displacement substoichiometric isotope dilution analysis (DSIDA), *Journal of Radionanalytical and Nuclear Chemistry*, 135 : 147.

D. Yan *et al*. (1989). Ion chromatographic trace analysis of mercury cadmium and zinc by post column derivatisation with a water soluble porphyrin, *Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie*, 334 : 507.

N.N. Basargin *et al*. (1998). Group concentration and determination of zinc cadmium and lead in the analysis of potable and natural water, *Industrial Laboratory*, 64 : 765.

P. Breuil *et al*. (1998). Analyse en ligne du cuivre et du zinc dans les effluents industriels par spectrométrie UV-visible, *Analusis*: (Paris), 26,8.

M.P. Heenan *et al*. (2003). Analysis of zinc phosphate in Baits, water, soil and biological specimens, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71 : 1019.

M. El Makhfouk *et al*. (2003). Analyse de la fraction labile du zinc, cadmium, plomb, et du cuivre dissous en milieu marin côtier par la redissolution anodique a impulsions différentielles, *Comptes rendu. Chimie*, 6 : 689.

Chapitre A-8 (Radioactivité)

[1] A. Rannou (1999). Connaissance actuelle des sources d'irradiation naturelle. *Radioprotection,* 34 : 505.

[2] R. Guillaumont (2004). Éléments chimiques à considérer dans l'aval du cycle nucléaire. *C. R. Chimie*, 7, 1129-1134.

[3] S. Billon, A. Morin, S. Caër, H. Baysson, J.P. Gambard, D. Laurier, M. Tirmarche (2004). Évaluation de l'exposition à la radioactivité naturelle en France. *Radioprotection,* 39, (2), 213-232.

[4] A. Cazoulat, Y. Lecompte, S. Bohand, P. Gérasimo (2007). Validation du facteur d correction

de l'auto-absorption des particiles alpha dans une eau : application à la surveillance de sites spécifiques de la défense. *Radioprotection,* 42, (1), 11-27.

[5] J. Real, M. Bourrasse, J. Feuerstein, R. Rouxel (2000). Influence des techniques de potabilisation sur la qualité radiologique de l'eau. *Radioprotection,* 35, (1), 31-44.

[6] J. Busto, Y. Gonin. Le laboratoire souterrain de la Vue-des-Alpes : mesure des quantités de radio-isotopes présents dans la matière.

[7] H. Métivier, M. Roy (1997). Dose efficace liée à la consommation d'eau minérale naturelle par l'adulte et le nourisson. *Radioprotection,* 32, (4), 491-499.

[8] NF EN ISO 5667-3 : 2004-06. Qualité de l'eau. Échantillonnage. Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau.

[9] P. Chevallier. Détection et mesure des rayonnements nucléaires. Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et caractérisation. PE 2550.

[10] NF EN ISO 10703 : 2008-03. Qualité de l'eau. Détermination de l'activité volumique des radionucléides. Méthode par spectrométrie gamma à haute résolution.

[11] NF M 60-804-1 (avril 2004). Énergie nucléaire. Mesurage de l'activité des transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha dans l'eau. Partie 1 : Généralités.

[12] N. Dacheux, J. Aupiais (1997). Determination of uranium, thorium, plutonium, americium, and curium ultratraces by photon electron rejecting α liquid scintillation. *Anal. Chem.*, 69, 2275-2282.

[13] A. de Bellefon, M. Cribier, J.-C. Mialocq (juillet 2005). Chimie et neutrinos. *l'actualité chimique*, n° 288, 7-14.

[14] ISO 11929-1 : 2000-07. Détermination de la limite de détection et du seuil de décision des mesurages des rayonnements ionisants – Partie 1 : Principes fondamentaux et application aux mesures par comptage, sans l'influence du traitement de l'échantillon.

[15] J.M. Duffey, F.I. Case, R.L. Metzger, B.J. Jessop, G.K. Schweitzer (1997). Development of a rapid procedure for the measurement of uranium in drinking water by PERALS spectrometry. *J. Radioanal. Nucl.* Chem, 221, (1-2), 115-122.

[16] H.L. Krieger, E.L. Whittaker (1980). Uranium in drinking water – Radiochemical method, Method 908.0, Prescribed procedures for measurement of radioactivity in drinking water, *EPA*-600/4-80-032.

[17] D 3972-90 (1993). Standard test method for isotopic uranium in water by radiochemistry, *1993 Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.02, ASTM, Philadelphia.

[18] J. Aupiais (2004). Rapid determination of uranium activity and concentration in water by alpha liquid scintillation with α/β discrimination. *Anal. Chim. Acta*, 517, 221-228.

[19] NF M 60-805-1 (février 2003). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eaux. Partie 1 : Mesure de la concentration de l'uranium dans l'eau par fluorimétrie.

[20] B. Kuczewski, C.M. Marquardt, A. Seibert, H. Geckeis, J.V. Kratz, N. Trautmann (2003). Separation of plutonium and neptunium species by capillary electrophoresis – inductively coupled plasma-mass spectrometry and application to natural groundwater samples. *Anal. Chem.*, 75, 6769-6774.

[21] NF M 60-801 (septembre 2004). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Mesurage de l'indice de radioactivité alpha global en équivalent plutonium 239 dans l'eau peu chargée en sels.

[22] NF M 60-804-2 (avril 2004). Énergie nucléaire. Mesurage de l'activité des transuraniens (Pu, Am, Cm) par spectrométrie alpha dans l'eau. Partie 2 : Séparation des radionucléides à mesurer par l'utilisation de résines anioniques, cationiques et par chromatographie d'extraction.

[23] NF M 60-804-3 (avril 2004). Énergie nucléaire. Mesurage de l'activité des transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) par spectrométrie alpha dans l'eau. Partie 3 : Séparation des radionucléides à mesurer par l'utilisation de résines par chromatographie d'extraction (petits volumes).

[24] J. Aupiais, C. Fayolle, P. Gilbert, N. Dacheux (1998). Determination of ^{226}Ra in mineral drinking waters by a liquid scintillation with rejection of β–γ emitters. *Anal. Chem.*, 70, 2353-2359.

[25] NF M 60-801 (septembre 2004). Energie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Mesurage de l'activité du radium 226 dans l'eau.

[26] S. Hamanaka, K. Shizuma, X Wen, K. Iwatani, H. Hasai (1998). Radon concentration measurement in water by means of α liquid-scintillation spectrometry with a PERALS spectrometer. *Nucl. Instr. And Meth. A*, 1998, 410, 314-318.

[27] NF M 60-800 (septembre 2004). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Mesurage de l'indice de radioactivité bêta global en équivalent strontium 90 et yttrium 90 dans l'eau peu chargée en sels.

[28] NF M 60-806-1 (mai 2005). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 1 : Mesurage de l'activité du strontium 90 dans les eaux – Séparation radiochimique du strontium par l'acide nitrique et mesurage de l'activité bêta de l'yttrium 90.

[29] NF M 60-806-2 (mai 2005). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 2 : Mesurage de l'activité du strontium 90 dans les eaux – Extraction par solvant organique de l'yttrium 90 et mesurage de l'activité bêta.

[30] NF M 60-806-3 (mai 2005). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 3 : Mesurage de l'activité du strontium 90 dans les eaux – Séparation radiochimique du strontium par extraction sur résine de type « éther-couronne » et mesurage de l'activité bêta.

[31] ISO 9698:1989-12. Qualité de l'eau – Détermination de l'activité volumique du tritium – Méthode par comptage des scintillations en milieu liquide.

[32] NF M 60-802-1 (juillet 2000). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 1 : Mesurage de l'activité des émetteurs Bêta par scintillation liquide – Cas particulier du tritium.

[33] NF M 60-802-3 (juillet 2003). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 3 : Mesurage de l'activité des émetteurs Bêta par scintillation liquide – Cas particulier de la présence simultanée du tritium et du carbone 14.

[34] NF M 60-802-2 (juillet 2000). Énergie nucléaire. Mesure de la radioactivité dans l'environnement – Eau. Partie 2 : Mesurage de l'activité des émetteurs Bêta par scintillation liquide – Cas particulier du carbone 14.

[35] H. Nies (1990). The contamination of the North Sea by artificial radionuclides during the year 1987. *J. Environ. Radioactivity*, 11, 55-70.

[36] J. Scheidhauer, L. Messainguiral (1960). Dosage simultané du césium 137 et des strontium 89 et 90 dans les eaux naturelles. *Rapport N° CEA-R-1701.*

[37] J. Scheidhauer, M. Chabidon, L. Ordinaire. Contribution à l'utilisation analytique du phosphomolybdate d'ammonium : séparation du radiocésium en solution. *Rapport N° CEA-*R-2430.

Chapitre A-9 (Paramètres organiques globaux)

Indice permanganate

A. Morette (1973). Sur la détermination de la demande chimique en oxygène comme test de potabilité d'une eau. *Bull. Ass. Fr. Pharm. Hydro.,* **10**, p. 21.

M. Dore, B. Legube et N. Merlet (1975). Oxydation des phénols en milieu aqueux, *J. Français Hydrologie,* 18 : 21.

M. Dore, N. Brunet et B. Legube (1975). Participation de différents composés organiques à la valeur des critères globaux de pollution », *Tribune du Cebedeau*, 28 : 1.

Demande chimique en oxygène

W.A. Moore *et al.* (1951). Determination of oxygen-consumed values of organic wastes. *Anal. Chem.,* 23 : 1297.

R.A. Dobbs and R.T. Williams (1963). Elimination of chloride interference in the COD test. *Anal. Chem.*, 35 : 1064.

M. Dore, N. Brunet et B. Legube (1975) Participation de différents composés organiques à la valeur des critères globaux de pollution », *Tribune du Cebedeau*, 28 : 1.

R.R. Himebaugh and M.J. Mith (1979). Semi-micro tube method for COD. *Anal. Chem.,* 51 : 1085.

Demande biochimique en oxygène

G. Van Beneden (1962). Passé, présent et avenir du B.O.D., *C.B.E.D.E.,* **229**, p. 615-624.

H.A.C. Montgomery (1967). The determination of biochemical oxygen demand by respirometric methods. *Water Res.,* 1 : 631.

J. Vial (avril 1970). Les techniques de contrôle des effluents. Importance particulière des mesures de DBO et DCO. *Conférences sur la pollution des eaux.* Montpellier.

J. Bardy (1976). Considérations sur le pourcentage de saturation des eaux en oxygène. *Tech. de l'Eau et de l'Assain.,* **352**, p. 41-44.

Carbone organique

B.T. Croll (1972). Determination of organic carbon in water. *Chem. Ind. (London)*, 110 : 386.

M. Dore, N. Brunet et B. Legube (1975). Participation de différents composés organiques à la valeur des critères globaux de pollution », *Tribune du Cebedeau*, 28 : 1.

Takahashi (5-8 décembre 1976). Ultra low level TOC Analysis of Potable Waters. Water Quality Technology Conference. *A.W.W.A.*

EPA (1982). Test method organic carbon, total (low level) (UV promoted, persulfate oxidation). *EPA. Method* 415.2.

L.A. Kaplan (1992). Comparison of high-temperature and persulfate oxidation methods for determination of DOC in freshwaters. *Limnol. Oceanogr.,* 37 : 1119.

R. Godec *et al.* (1992). New technology for TOC analysis in water. *Ultrapure Water, 9 : 17.*

L.A. Kaplan. (1994). A field and laboratory procedure to collect, process and preserve freshwater samples for DOC analysis. *Limnol. Oceanogr.,* 39 : 1470.

L.A. Kaplan (2000). Comparison of three TOC methodologies. Jour. AWWA, 92, (4), p. 149-156.

Carbone organique dissous biodégradable

J.C. Joret et Y. Levi (1986). Méthode rapide d'évaluation du carbone éliminable des eaux par voie biologique. *Tribune du CEBEDEAU*, 510 (39), 3-9.

P. Servais, G. Billen, M. C. Hascoët (1987). Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Water Research*, **21**, p. 445-450.

P. Servais, A. Anzil, C. Vendresque (1989). Simple method for determination of biodegradable dissolved organic carbon in water. *Applied Environnemental Microbiology*, **55**, p. 2732-2734.

J.C. Block, L. Mathieu, P. Servais, D. Fontveille and P. Werner (1992). Indigenous bacteria inocula for mesuroing the biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) in waters. *Water Research*, 26, p. 481-486.

C. Volk, C. Renner et J.C. Joret (1992). La mesure du CODB : un index du potentiel de reviviscence bactérienne des eaux. *Revue des Sciences de l'Eau*, 5, 189-205.

K.M. Agbekodo et B. Legube (1995). Distribution du CODB d'une eau de surface ayant subi deux types de traitement différents, *Environ. Technol.*, 16 : 657.

I.C. Escobar and A.A. Randall (2001). Assimilable organic carbon (AOC) and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) : complementary measurements. Water Research, 35, p. 4444-4454.

L. Kaplan, F. Riabs and D. Reasoner (2005). Techniques for measuring biodegradable organic matter. In : Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution. *Edited by M. Prevost, P. Laurent, P. Servais and J.C. Joret,* Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution, *AWWA Science and Technology.* Chapter 2, 37-59.

Azote total et azote organique

G.B. Morgan *et al.* (1957). Quantitative determination of organic nitrogen in water, sewage and industrial wastes. *Anal. Chem.*, 29 : 833.

P. Van Beneden (1982). Évaluation physico-chimique de la pollution due au rejet des eaux résiduaires urbaines. *Tech. de l'Eau et de l'Assain.*, **421**, p. 19-26.

P.K. Egeberg, M. Eikenes and E.T. Gjessing (1999). Organic nitrogen in NOM size classes. *Environ. Int.*, 25 (2/3), 225-236.

P. Westerhoff and H. Mash (2002). Dissolved organic nitrogen in drinking water supplies : a review. *Jour. Water SRT-Aqua,* 51, 415-448.

Composés phosphorés et phosphore total

D. M. Fogg, N. T. Wilkinson (1958). The colorimetric determination of phosphorus. *Analyst,* **83**, p. 406-414.

J. Murphy, J. Riley (1962). A modified single solution for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta,* **27**, p. 30.

G. Proft (1964). Determination of total phosphorus in water and wastewater as molybdo-vanado-phoshoric acid. *Limnologica*, 2 : 407.

A. Henriksen (1966). An automatic method for determining orthophosphate in sewage and highly polluted waters. *Analyst,* 91 : 652.

Composés organo-halogénés

R.C. Dressman and A. Stevens (1983). Analyisis of organohalides in water. An evaluation update. *J. Amer. Water Works Assoc.,* 75 : 431.

B. Wigilius, B. Allard, H. Borén and A. Grimvall (1988). Determination of adsorbable organic halogens (AOX) and their molecular weight distribution in surface water samples. *Chemosphere*, 17 (10), p. 1985-1994.

D.A. Reckhow *et al.* (1990). The determination of total organic halide in water. A comparative study of two instruments. *Internat. J. Environ. Chem.,* 38 : 1.

G. Muller (2003). Sense or *no*-sense of the sum parameter for water soluble « adsorbable organic halogens » (AOX) and « absorbed organic halogens » (AOX-S18) for the assessment of organohalogens in sludges and sediments. *Chemosphere*, 52, (2), 371-379.

Absorbance UV

J.K. Edzwald *et al.* (1985). Surrogate parameters for monitoring organic matter and THM precursors. *J. Amer. Water Works Assoc.,* 77 : 122.

J.P. Croue, J.F. Debroux, G.L. Amy, G.R. Aiken and J.A. Leenheer (1999). Natural organic matter : structural characteristics and reactive properties. *In: Formation and control of disinfection by-products in drinking water.* Edited but P.C. SINGER. Denver (Colorado). AWWA, Chapter 4.

J. Dilling and K. Kaiser (2002). Estimation of the hydrophobic fraction of dissolved organic matter in water samples using UV photometry. *Water Research,* 36, 5037-5044.

J.A. Leenheer and J.P. Croué (2003). Dissolved organic matter : recent discoveries and research challenges. *Environ. Sci. Technol.,* 37 : 19A.

J.L. Weishaar, G. Aiken, B.A. Bergamashi, M.S. Fram, R. Fujii and K. Mopper (2003). Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environ. Sci. Technol.,* 37, 4702-4708.

Matières organiques naturelles et substances humiques

G.R. Aiken *et al.* (1985). *Humic substances in soil, sediment and water.* JohnWiley and Sons, New York.

B. Legube, F. Xiong, J.P. Croué et M. Dore (1990). Etude sur les acides fulviques extraits d'eaux superficielles françaises, *Revue des Sciences de l'Eau*, 3 : 399-424.

A. Bruchet, C. Rousseau and J. Malleviale (1990). Pyrolysis GC-MS for investigating high-molecular-weight THM precursors and other refractory organics. *J. Amer. Water Works Assoc.*, 82 : 66.

B. Legube (1991). La matière organique des eaux naturelles, *Analusis*, 19 : 15.

A. Spitzy and J. Leenheer (1991). Dissolved organic carbon in rivers. In *Biogeochemistry of major world rivers.* Ed. By E. T Degens, S. Kempe and E. Richey., chap.9.

R.L. Malcolm and P. McCarthy (1992). Quantificative evaluation of XAD-8 and XAD-4 resins using in tandem for removing organic solutes from water. *Environment International*, 18 : 597.

K. Mopper *et al.* (1992). Determination of sugars in unconcentrated seawater and other natural waters by liquid chromatography and pulsed amperometric detection. *Environ. Sci. Technol.*, 26 : 133.

J.P. Croué, B. Martin, P. Simon et B. Legube (1993). Les matières hydrophobes et hydrophiles des eaux de retenue ; extraction, caractérisation et quantification, *Water Supply*, 11 : 51.

F. Dossier Berne, B. Panais, N. Merlet B. Cauchi et B. Legube (1994). Analyse des acides aminés dissous totaux dans les eaux à potabiliser en cours de traitement. *Environ. Technol.*, 15 : 901.

J.P. Croué *et al.* (1999). Natural organic matter : structural characteristics and reactive properties. In « *Formation and control of disinfection by-products in drinking water* », Ed. Singer P.C., AWWA publishers.

J. L. Leenheer and J.-P. Croué (2003). Characterizing Aquatic Dissolved Organic Matter, *Environ. Sci. Technol.*, 37 : 18A.

B. Koudjounou, M. Prévost and N. Merlet (2005). Characterization of organic matter in water resources and supplies. In : Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution. *Edited by M. Prevost, P. Laurent, P. Servais and J.C. Joret, AWWA Science and Technology.* Chapter 1, 1-36.

Chapitre A-10 (Micropolluants organiques)

Méthodes instrumentales

M. Caude. et D. Thiebaut (1986). Practical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction. Editions Harwood.

J. Pawliszyn (1997). Solid Phase Microextraction. Theory and Practice. Editions Wiley-VCH.

V. Camel (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples, *Trends in analytical chemistry,* 19 (4), 2000, 229-248).

F. Rouessac, A. Rouessac (2004). Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes, Éditions DUNOD.

Techniques de l'ingénieur – La chromatographie en phase gazeuse par J. Tranchant (dossier P1485 de 07/1996) et La chromatographie en phase liquide par M. Caude et A. Jardy (dossier P1455 de 10/11994).

Acrylamide

S. Chu and C.D. Metcalfe (2007). Analysis of acrylamide in water using coevaporation preparative step and isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 79 : 5093.

Agents de surface

A. Arnoux (1970). Essai d'appréciation de la pollution par les détergents anioniques rejetés en mer par le grand émissaire de Marseille. *Bull. Ass. Pharm. Fr. Hydro.,* **3**, p. 71.

R. Wickbold (1972). Determination of non-ionic surfactants in river and wastewaters. *Tenside* 9 : 173.

R. Wickbold (1972). Tenside detergents, **9**, (4), p. 143-147.

L.K. Wang *et al.* (1975). Direct two-phase titration method for analysing anionic non-soap surfactants in fresh and saline waters. *J. Environ. Health,* 38 : 159.

E. Kunkel *et al.* (1977). New developments in trace and microanalysis of surfactants. *Tenside* 14 : 199.

Q.W. Osburn (1986). Analytical methodology for LAS in waters and wastes. *J. Amer. Oil Chem. Soc.,* 63 : 257.

Aldéhydes et formaldéhyde

W.H. Glaze *et al.* (1989). Ozonation by-products. 2. Improvement of an aqueous-phase derivatization method for the detection of formaldehyde and other carbonyl compounds formed by the ozonation of drinking water. *Environ. Sci. Technol.,* 23 : 838.

D.A. Cancilla *et al.* (1992). Characterization of the PFBOA derivatives of some aliphatic mono- and dialdehydes and quantitative water analysis of these aldehydes. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem. Int.,* 75 : 842.

N. Sugaya *et al.* (2001). Analysis of aldehydes in water by headspace-GC/MS. *Journal of Health Science*, 47 : 21.

S.W. Tsai and C.M. Chang (2003). Analysis of aldehydes in water by solid phase microextraction with on-fiber derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1015 : 143.

AOX et TOX

Évaluation globale : voir la bibliographie des Composés organo-halogénés du chapitre A-9.

R.C. Barth and P.S. Fair (1992). Comparison of the microextraction procedure and method 552 for the analysis of HAAs and chlorphenols. *J. Amer. Water Works Assoc.,* 84 : 94.

D. Benanou et F. Acobas (1998). Analyse des acides haloacétiques dans l'eau par une nouvelle technique : extraction et dérivation simultanées. *Journées Information Eaux, Annales 1998, conf. 38*. APTEN, Poitiers, France.

B. Koudjounou, G.L. Lebel et L. Dabeka (2006). Méthode consolidée d'analyse d'une suite de sous-produits de désinfection des eaux potables : expérience de santé au Canada. *Journées Information Eaux, Annales 2006, conf. 46*. APTEN, Poitiers, France.

J. De Laat, F. Berne, R. Brunet et C. Hue (2008). Sous produits de chloration formés lors de la désinfection des eaux de piscines. *Journées Information Eaux, Annales 2008, conf. 20*. APTEN, Poitiers, France.

Benzène, BTEX et hydrocarbures aromatiques monocycliques

C.M.M. Almeida and L.V. Boas (2004). Analysis of BTEX and other substituted benzenes in water using headspace SPME-GC-FID : Method validation. *Journal of Environmental Monitoring,* 6 : 80.

K. Sieg *et al*. (2008). Analysis of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes and n-aldehydes in melted snow water via solid-phase dynamic extraction combined with GC/MS. *Journal of Chromatography A,* 1178 : 178.

Benzopyrène et HAP

C. Cavelier (1980). Mesure d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'eau par chromatographie en phase liquide et détection fluorimétrique. *Analusis,* **8**, (2), p. 46-48.

J. Guiteras *et al*. (1998). Quantitative multicomponent analysis of PAH in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 361 : 233.

E. Manoli and C. Samara (1999). PAH in natural waters : sources, occurrence and analysis. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 18 : 417.

H. Pan *et al*. (1999). Quantitative analysis of trace PAH in drinking water with C18-solid-phase extraction-GC/MS. *Fenxi Huaxue*, 27 : 143.

P.W. Crozier et al. (2001). Trace level analysis of PAH in surface waters by solid phase extraction and GC/MS. *Analyst*, 126 : 1974.

E. Martinez et al. (2004). Simplified procedures for the analysis of PAH in water, sediments and mussels. *Journal of Chromatography A*, 1047 : 181.

M. Algarra *et al*. (2005). Detection and quantification of PAH in drinking water by front-face fluorimetry on a solid sorbent and PLS analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382 : 1103.

V. Fernandez-Gonzalez *et al*. (2007). Solid – phase microextraction – GC – tandem MS analysis of PAH. Towards the European Union water directive. *Journal of Chromatography A*, 1176 : 48.

Chlorobenzènes et hydrocarbures aromatiques monocycliques

Y. Wang *et al*. (1998). Application of dynamic liquid-phase microextraction to the analysis of chlorobenzenes in water by using a conventional microsyringue. *Analytical Chemistry,* 70 : 4610.

Y. He *et al*. (2000). Trace analysis of ten chlorinated benzenes in water by headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A,* 874 : 149.

M. Khajeh *et al.* (2006). Trace analysis of chlorobenzenes in water samples using headspace solvent microextraction and GC/ECD. *Talanta,* 69 : 1088.

Chlorure de vinyle

R. Charvet, C. Cun et P. Leroy (1999). Analyse du chlorure de vinyle dans les matrices aqueuses par la technique de microextraction sur phase solide (SPME). *Journal Européen d'Hydrologie*, 30 : 157.

R. Charvet, C. Cun et P. Leroy (2000). Vinyl chloride analysis with solid phase microextraction/GC/MS applied to analysis in material and aqueous samples. *Analysis*, 28 : 980.

D. Fabbri *et al.* (2000). Analysis of poly (vinyl chloride) and other polymers in sediments and suspended matter of a coastal lagoon by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chemica Acta*, 413 : 3.

Complexants

T. D. Waite and F.M.M. Morel (1983). Characterization of complexing agents in natural waters by copper (II)/copper (I) amperometry. *Analytical Chemistry*, 55 : 1268.

C. Schaffner and W. Giger (1984). Determination of nitriloacetic acid in water by high-resolution GC. *Journal of Chromatography*, 312 : 413.

F. Sacher *et al.* (1998). Synthetic organic complexing agents – Analysis and occurrence in surface waters. *Von Wasser*, 20 : 31.

T.P. Knepper (2003). Synthetic chelating agents and compounds exhibiting complexing properties in the aquatic environement. *Trends in Analytical Chemistry*, 22 : 708.

Dichloro-1,2 éthane, hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils, trihalométhanes et hydrocarbures aromatiques monocycliques

T. A. Bellar et coll. (1974). Determining volatile organics at microgram per liter levels by gas chromatography. *J.A.W.W.A.,* **66**, p. 739-744.

J.P. Mieure (1977). A rapid and sensitive method for determining volatile organohalides in water. *J. Amer. Water Works Assoc.*, 69 : 60.

A. Montiel (1979). Méthode de dosage rapide et sensible des composés organo volatils et de leurs précurseurs dans les eaux. *Tribune du CEBEDEAU,* **422-423**, p. 23-30.

J. Royer, C. Hennequin (1982). Dosage de composés organiques volatils dans les eaux. *T.S.M.,* **I**, p. 25-28.

U.S. Environmental Protection Agency (1992). Methods for the determination of organic compounds in finished drinking water and raw source water. *U.S. EPA, Environmental Monitoring & Support Lab.,* Cincinnati, Ohio.

M. Carpi and C. Zufall (2003). GC analysis of THM in drinking water – A rapid and direct quantitative method. *LC-GC North America*, 21 : 88.

D.H. Cho *et al.* (2003). Analysis of THM in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography. *Water Research,* 37 : 402.

B. Koudjounou, G.L. Lebel et L. Dabeka (2006). Méthode consolidée d'analyse d'une suite de sous-produits de désinfection des eaux potables : expérience de santé au Canada. *Journées Information Eaux, Annales 2006, conf. 46.* APTEN, Poitiers, France.

A. Tor and M.E. Aydin (2006). Application of liquid-phase microextraction to the analysis of THM in water. *Analytica Chimica Acta*, 575 : 138.

Dioxines

R. Gotz *et al.* (1994). Sampling and analysis of water and suspended particulate matter of the river Elbe for polychlorinated-dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) *Chemosphere* 28 : 63.

E. Pujadas *et al.* (2001). Application of the new C18 Speeddisks™ to the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in water and effluent samples. *Chemosphere* 43 : 449.

G. Eppe *et al.* (2006). Analyse des dioxines par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-HRMS, GC/MS/MS et GCxGC-TOFMS). Principes, applications et perspectives. *Chimie nouvelle*, 24 : 72.

Epichlorhydrine

C.E. Doring and P.H. Schroter (1989). Investigations into the enrichment and determination of trace concentrations of epichlorhydrin in water. *Acta Hydrochimica Hydrobiologica,* 17 : 3.

Hydrocarbures totaux (indice hydrocarbure)

S. M. Levy (1962). The identification of petroleum products in the marine environment by absorption spectrometry. *Water Research,* **6**, p. 57-69.

R. Jeltes (1969). Gas chromatographic determination of mineral oil in water. *Water Research,* **3**, p. 931-941.

P. Chambon, R. Chambon-Mougenot (novembre 1970). Interférence des acides gras dans le dosage des hydrocarbures aliphatiques par spectrophotométrie infrarouge. *Bull. Ass. Pharm. Fr. Hydrologie,* **3**.

E. R. Adlard *et al.* (janvier 1972). Identification of hydrocarbons polluants on seas and beaches by gas chromatography. *Analytical Chemistry,* **44**, p. 64-73.

J. L. Oudin. Dosage des hydrocarbures dans les eaux et dans les sols. *Bull. Ass. Pharm. Fr. Hydrologie,* avril 1972, **7**.

J. Ranchet, P. Clément (septembre-octobre 1975). Dosage des hydrocarbures dans les eaux. *Bul. Liaison des Ponts et Chaussées,* **79**, p. 68.

A.L. Kvernheim *et al.* (1999). Development of a new hydrocarbon index for oil-in-water. *Chemosphere*, 39 : 2707.

Microcystine LR

L. Lawton *et al.* (1994). Extraction and HPLC method for the determination of microcytins in raw and treated waters. *Analyst*, 119 : 1525.

K-I. Harada *et al.* (2001) Trace analysis of microcystins in environmental samples. *J. AOAC Int.,* 84 : 1636.

P. Hyenstrand *et al.* (2001). Effects of adsorption to plastics and solvent conditions in the analysis of the cyanobacterial toxin, microcystin-LR, by HPLC. *Water Research,* 35 : 3508.

F. Kondo *et al.* (2002). Determination of microcystins in lake water using reusable immunoaffinity column. *Toxicon*, 40 : 893

G. Vasas *et al.* (2004). Analysis of cyanobacterial toxins by capillary electrophoresis. *Electrophoresis,* 25 : 108.

P. Babica *et al.* (2006). Evaluation of extraction approaches linked to ELISA and HPLC for analyses of microcystin-LR, -RR and – YR in freshwater sediments with different organic material contents. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385 : 1545.

Mercaptans

F.K. Kawahara (1971). Gas chromatographic analysis of mercaptans, phenols and organic acids in surface awters with use of pentafluorobenzyl derivatives. *Env. Sci. Technol.*, 5 : 235.

Nitrosamines

R.C. Cheng *et al.* (2006). Alternative methods for the analysis of NDMA and other nitrosamines in water. *J. Amer. Water Works Assoc.,* 98 : 82.

J.W. Munch and M.V. Bassett (2006). Method development for the analysis of N-nitrosodimethylamine and other N-nitrosamines in drinking water at low ng/L concentrations using solid-phase extraction and GC with chemical ionisation tandem MS. *Journal of AOAC International*, 89 : 486.

A. Bruchet I. Baudin et Z. Do-Quang (2008). Sous-produits de traitement de l'eau : Nitrosamines et NDMA, cas de la France. *Journées Information Eaux, Annales 2008, conf. 21.* APTEN, Poitiers, France.

C. Planas *et al.* (2008). Analysis of nitrosamines in water by automated SPE and isotope dilution GC/HRMS. Occurence in the different steps of a drinking water treatment plant. *Talanta*, 76 : 906.

Organostanniques

W.M.R. Dirkx *et al.* (1994). Speciation analysis of organotin in water and sediments by GC with optical spectrometric detection after extraction separation. *Analytica Chimica Acta*, 286 : 309.

C. Devos *et al.* (2005). Automated headspace-solid-phase microextraction-retention time locked-isotope dilution GC/MS for the analysis of organotin compounds in water and sediments samples. *Journal of Chromatography A,* 1079 : 408.

Perturbateurs endocriniens (hormones)

D.D. Fine, G. P. Breidenbach, T.L. Price, S.R. Hutchins (2003). *J. Chrom. A.*, 1017, 167-185.

M.J. Lopez de Alda, S. Diaz-Cruz, M. Petrovic, D. Barcelo (2003). *J. Chrom. A.*, 1000, 503-526.

B.J. Vanderford, R.A. Pearson, D.J. Rexing, S.A. Snyder (2003) *Anal. Chem.*, 75, 6265-6274.

M.D. Hernando, M. Mezxua, M.J. Gomez, O. Malato, A. Aguera, A.R. Fernandez-Alba (2004). *J. Chrom. A.*, 1047, 129-135.

G. Herry *et al.* (2004). Les hormones stéoridiennes dans les stations d'épuration : détermination et occurrence. *Journées Information Eaux, 16e édition, Annales 2004,* conf. 60. APTEN, Poitiers, France.

S. Rodrigez-Mozaz, M. Lopez de Alda, D. Barcelo (2004). *J. Chrom. A.*, 1045, 85-92.

M.A. Soliman, J.A. Pedersen, I.H. Suffet (2004). *J. Chrom. A.*, 1029, 223-237.

M-L. Janex-Habibi *et al.* (2006). Distribution et devenir des hormones oestrogènes et des alkylphénols dans huit stations de traitement des eaux résiduaires françaises. *Journées Information Eaux, 17e édition, Annales 2006*, conf. 13. APTEN, Poitiers, France.

Y. Watabe, T. Kubo, T. Nishikawa, T. Fujita, K. Kaya, K. Hosoya (2006) *J. Chrom. A.*, 1120, 252-259.

C.-Y. Chen, T.-Y. Wen, G.-S. Wang, H.-W. Cheng, Y.-H. Lin, G.-W. Lien (2007). *Sci. Total Env.*, 378, 352-365.

R. Gibson, E. Becerril-Bravo, V. Silva-Castro, B. Jimenez (2007). *J. Chrom. A.*, 1169, 31-39.

S.D. Kim, C. Jaeweon, I.S. Kim, B.J. Vanderford, S.A. Snyder (2007). *Water Research*, 41, 1013-1021.

M. Kuster, M.J. Lopez de Alda, M.D. Hernando, M. Petrovic, J. Martin-Alonso, D. Barcelo (2008*). J. of Hydrology*, 358,112-123.

C. Lecarpentier *et al.* (2008). Le suivi des perturbateurs endocriniens et des produits pharmaceutiques dans les rivières d'Ile de France. *Journées Information Eaux, 18e édition, Annales 2008*, conf. 26. APTEN, Poitiers, France.

J.-Y. Pailler, C. Guinard, F. Barich, J.-F. Iffly, L. Pfister, L. Hoffmann, A. Krein (2008). *Eur. J. Water. Qual.*, 39, 127-144.

X. Peng, Y. Yu, C. Tang, J. Tan, Q. Huang, Z. Wang (2008). *Sci. Total Env.*, 397, 158-166.

C. Stavrakavis *et al.* (2008). Analysis of endocrine disrupting compounds in wastewater and drinking water treatment plants at the nanogram par litre level. *Environmental Technology,* 29 : 279.

B.L.L. Tan, D.W. Hawker, J.F. Muller, L.A. Trembaly, H.F. Chapman (2008). *Water Research*, 42, 404-412.

L. Viglino, K. Aboulfadl, M. Prevost, S. Suve (2008) *Talanta*, 76, 1088-1096.

■ Pesticides et apparentés

Observatoire Regional de Santé de Bretagne (2001). Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances.

G. Balloy, S. Hérault, R. Iisrael, A. Robin, C. Saout et R. Tracol (2004). Les pesticides dans l'eau potable (2001/03). Ministère de la santé et des solidarités.

World Health Organization (2004). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2004, IPCS (International Programme on Chemical Safety). Inter-organization programme for the sound management chemicals.

G. Balloy *et al.* (2008). L'eau potable en France : Les pesticides dans l'eau potable en France. *Journées Information Eaux, 18e édition, Annales 2008,* conf. 2. APTEN, Poitiers, France.

□ Organo-chlorés et PCB

A. Geissler and H.F. Scholer (1991). The analysis of chloropesticides and PCB in water. A statistical evaluation of four enrichment methods, *Chemosphere*, 23 : 1029.

D.J. Bourgeois *et al.* (1995). Microextraction of selected polychlorinated biphenyl congeners and dichlorodiphenyltrichloroethanes from environmental water and analysis by gas chromatography-electron capture detector, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 59 : 15.

E. Pujadas *et al.* (2001). Application of the new C18 Speedisks™ to the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in water and effluent samples, *Chemosphere*, 43 : 449.

S.H.G. Brondi *et al.* (2005). Ultratraces analysis of organochlorine pesticides in drinking water by solid phase extraction coupled with large volume injection/gas chromatography/mass spectrometry, *Journal of Separation Science*, 28 : 2243.

L. Turrio-Baldassarri *et al.* (2005). Analysis of 60 PCB congeners in drinkable water samples at 10-50 pg/L level, *Microchemical Journal*, 79 : 193.

A. Derouiche *et al.* (2007). Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in water by headspace solid-phase microextraction with gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1138 : 231.

❑ Organo-phosphorés

M. Culea *et al.* (1996). Trace analysis of triazines and organophosphorus pesticides in water, *Fresenius'Journal of Analytical Chemistry*, 355 : 748.

J. Beltran *et al.* (1998). Solid-phase microextraction for quantitative analysis of organophosphorus pesticides in environmental water samples, *Journal of Chromatography A*, 808 : 257.

Z. Sun and J.K. Hardy (2000). Analysis of organophosphorus pesticides in water samples using a continuous membrane permeation extractor, *Advances in Environmental Research*, 4 : 225.

X. Zhu *et al.* (2005). Selective solid-phase extraction using molecularly imprinted polymer for the analysis of polar organophosphorus pesticides in water and soil samples, *Journal of Chromatography A*, 1092 : 161.

L. Campanella *et al.* (2007). Organophosphorus and carbamate pesticide analysis using an inhibition tyrosinase organic phase enzyme sensor ; comparison by butyrylcholinesterase + choline oxidase opee and application to natural waters, *Analytica Chimica Acta*, 587 : 22.

❑ Triazines

J.C. Molto *et al.* (1991). Determination of triazines and organophosphorus pesticides in water samples using solid-phase extraction, *Journal of Chromatography*, 555 : 137.

S. Sauzy, J. Danjou (1992). Comparaison de deux méthodes de dosage des triazines dans les eaux : chromatographie en phase gazeuse et méthode immunoenzymatique. *Journ. Fr. d'Hydrol.,* **23**, (2), p. 213-231.

J. F. Pilette (1993). Application des techniques immunoenzymatiques à la détection des pesticides. *L'eau, l'Industrie, les Nuisances,* **163,** p. 46.

M. Psathaki *et al.* (1994). Determination of organophosphorus and triazine pesticides in ground- and drinking water by solid-phase extraction and gas chromatography with nitrogen-phosphorus or mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 667 : 241.

M.E. Baez *et al.* (1997). Solid Phase Extraction of Organophosphorus, Triazine, and Triazole-Derived Pesticides from Water Samples. A Critical Study, *HRC Journal of High Resolution Chromatography*, 20 : 591.

C. Charreteur *et al.* (1997). Intérêt de l'injection de grands volumes pour le dosage des triazines dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse, *Analusis*: (Paris), 25 : 211.

M. Forcada *et al.* (2000). Multiresidue procedures for determination of triazine and organophosphorus pesticides in water by use of large-volume PTV injection in gas chromatography, *Chromatographia*, 51 : 362.

H. Sabik *et al.* (2000). Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters, *Journal of Chromatography A,* 885 : 217.

B. Ballesteros *et al.* (2003). Evaluation of a field-test kit for triazine herbicides (SensioScreen® TR500) as a fast assay to detect pesticide contamination in water samples, *Analytica Chimica Acta*, 475 : 105.

A.C.B. Da Cuhna *et al.* (2004). Multianalyte determination of different classes of pesticides (acidic, triazines, phenyl ureas, anilines, organophosphates, molinate and propanil) by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 378 : 940.

A. Tanabe and K. Kawata (2004). Determination of Triazine Pesticides and Related Compounds in Environmental Water by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Analytical Sciences*, 20 : 227.

❑ Urées substituées

N. Wang and W.L. Budde (2001). Determination of carbamate, urea and thiourea pesticides and herbicides in water, Analytical Chemistry, 73 : 997.

H. Berrada *et al.* (2003). Determination of urea pesticide residues in vegetable, soil and waters amples, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 33 : 19.

P. Paiga *et al.* (2008). A multiresidue method for the analysis of carbamate and urea pesticides from soils by microwave-assisted extraction and liquid chromatography with photodiode array detection, Analytical Letters, 41 : 1751

□ Acides phénoxyacétiques

J. Patsias *et al.* (2002). Analysis of phenoxyalkanoic acid herbicides and their phenolic conversion products in soil by microwave assisted solvent extraction and subsequent analysis of extracts by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 959 : 153.

□ Glyphosate et AMPA

M.E. Oppenhuizen et J.E. Cowell (1991). Liquid chromatographic determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in environmental water : collaborative study, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 74 : 317.

H.Y. Aboul-Enein and X.X. Sun (2000). Determination of glyphosate herbicide and (aminomethyl) phosphonic acid (AMPA) in water by liquid chromatography and fluorescence detection. Part II : Direct determination using pre-column derivatization with NBD-Cl, *Analusis*, 28 : 819.

E. Le Fur *et al.* (2000). Determination of glyphosate herbicide and aminomethylphosphonic acid in natural waters by liquid chromatography using pre-column fluorogenic labeling. Part 1 : Direct determination at the 0.10 µg/L level using FMOC. *Analusis,* 28 : 813.

B. Le Bot *et al.* (2002). Optimization and performance evaluation of the analysis of glyphosate and AMPA in water by HPLC with fluorescence detection, *Chromatographia*, 56 : 161.

M. Popp *et al.* (2008). Determination of glyphosate and AMPA in surface and waste water using high-performance ion chromatography coupled to inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometry (HPIC-ICP-DRC-MS), *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 : 695.

□ Aminotriazole

J. Dugay and M.C. Hennion (1995). Evaluation of the performance of analytical procedures for the trace-level determination of aminotriazole in drinking waters, *Trends in Analytical Chemistry*, 14 : 407.

□ Méthodes multirésidus

R. Hu *et al.* (2002). Analyse des multirésidus dans les eaux par SPME/CG/SM. *Journées Information Eaux, 15e édition, Annales 2002,* conf. 12. APTEN, Poitiers, France.

J-B. Baugros *et al.* (2008). Multiresidue analytical methods for the ultra-trace quantification of 33 priority substances present in the list of REACH in real waters amples.

Y. Gru *et al.* (2008). Dosage de micropolluants organiques dans les eaux – Apport des techniques de couplage avancées de type HPLC avec préconcentration en ligne et spectrométrie de masse de type trappe ionique linéaire (MS^2) pour résoudre les effets de matrice. *Journées Information Eaux, 18e édition, Annales 2008,* conf. 19. APTEN, Poitiers, France.

■ Phénols

R. Jacquemain, F. Rémy, C. Guinchard (1975). Études et comparaisons des déterminations des phénols dans les eaux ; application à l'examen d'un rejet de papeterie. *Journal français d'Hydrologie,* **16**, p. 25-32.

R.C.C. Wegman and A.W.M. Hofstee (1979). Chlorophenols in surface waters of the Netherlands (1976-1977), *Water Research*, 13 : 651.

A. Oubina *et al.* (1999). Development and optimization of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for 4-nitrophenol. Application to the analysis of certified water samples. *Analytica Chimica Acta*, 387 : 255.

T. Ieda *et al.* (2005). Analysis of nonylphenol isomers in a technical mixture and in water by comprehensive two-dimensional GC-MS. *Environ. Sci. Technol.*, 39 : 7202.

S. Rodriguez-Mozaz *et al.* (2005). Analysis of bisphenol A in natural waters by means of an optical immunosensor. *Water Research*, 39/5071.

A. Zafra *et al.* (2005). GC-MS method for the determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives in urban wastewater. *Water Research*, 37/735.

M-L. Janex-Habibi *et al.* (2006). Distribution et devenir des hormones oestrogènes et des alkylphénols dans huit stations de traitement des eaux résiduaires françaises. *Journées Information Eaux, 17e édition, Annales 2006*, conf. 13. APTEN, Poitiers, France.

H. Sambe *et al.* (2006). Simultaneous determination of bisphenol A and its halogenated derivatives in river water by combination of isotope imprinting and LC-MS. *Journal of Chromatography A*, 1134 : 16.

G. Gatidou *et al.* (2007). Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by GC-MS. *Journal of Chromatography A*, 1138 : 32.

A. Gentili et al. (2008). MS techniques for analysing phenols, their metabolites and transformation products of environmental interest. *Trends in Analytical Chemistry*, 27 : 888.

C. Stavrakavis *et al.* (2008). Analysis of endocrine disrupting compounds in wastewater and drinking water treatment plants at the nanogram par litre level. *Environmental Technology,* 29 : 279.

Phtalates

K. Furtmann (1994). Phthalates in surface water – a method for routine trace level analysis, *Fresenius'Journal of Analytical Chemistry*, 348 : 291.

O. Ballesteros *et al.* (2006). Sensitive GC-MS method for the determination of phthalate esters, alkylphenols, bisphenol A and their chlorinated derivatives in wastewater samples. *Journal of Chromatography A*, 1121 : 154.

P. Serodio and J.M.F. Nogueira (2006). Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water, *Water Research*, 40 : 2572.

J. Li *et al.* (2008). Analysis of phthalates via HPLC-UV in environmental water samples after concentration by solid-phase extraction using ionic liquid mixed hemimicelles, *Talanta*, 74 : 498.

Résidus pharmaceutiques

D.W. Kolpin *et al.* (2002). Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminats in U.S. streams 1999-2000 : A national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, 36 : 1202.

F. Sacher *et al.* (2005). Analysis of iodinated X-ray contrast agents in water samples by ion chromatography and inductively-coupled plasma MS. *J. Chromatogr. A,* 1085 : 117.

S-Y. Lee *et al.* (2006). Determination of iohexol clearance by HPLC-tandem MS. *J. Chromatogr. B*, 839 : 124.

K. Mitani and H. Kataoka (2006). Determination of fluoroquinolones in environmental waters by in-tube solid-phase microextraction coupled with LC-tandem MS. *Anal. Chim. Acta,* 562 : 16.

R. Gibson *et al.* (2007). Determination of acidic pharmaceuticals and potential disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by GC-MS. *Journal of Chromatography A*, 1169 : 31.

C. Nebot *et al.* (2007). Quantification of human pharmaceuticals in water samples by HPLC-tandem MS. *Anal. Chim. Acta,* 563 : 87.

M. Farre *et al.* (2008). Analysis of biologically active compounds in water by ultra-performance LC quadrupole time-of-flight MS. *Rapid Comm. Mass Spectrom.,* 22 : 41.

B. Kasprzyk-Hordern *et al.* (2008). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research*, 42 : 3498.

Tétrachloroéthylène et trichloroéthylène

Z. Chen *et al.* (2004). Determination of Tetrachloroethene, Trichloroethylene, and Their Metabolites at Trace Levels in Ground Waters by On-Line Solid Phase Extraction/HPLC, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 27 : 885.

S.R. Burge and J. May (2005). Automated ground water sampling and analysis of Trichloroethene using a « Universal » sampling/analytical system, *Ground Water Monitoring and Remediation*, 25 : 113.

Chapitre A-11 (Soufre et composés soufrés)

N.H. Furman and J.H. Wallace (1931). Applications of ceric sulfate in volumetric analysis. IX. The standardization of thiosulfate solutions. Determination of thiosulfate, *Journal of the American Chemical Society*, 53 : 1283.

F.K. Kawahara (1971). Gas chromatographic analysis of mercaptans, phenols, and organic acids in surface waters with use of pentafluorobenzyl derivatives, *Environmental Science and Technology*, 5 : 235.

A. Morette (1971). Chimisme et biochimisme des eaux sulfurées. *Bull. Ass. Pharm. Fr. Hydro.*, **5**, p. 71.

N.J. Bethea and R.M. Bethea (1972). Improved method for automatic analysis of sulfide in water, *Analytica Chimica Acta*, 61 : 311.

J. Boulègue (1981). Simultaneous determination of sulfite, polysulfides and thiosulfate asan aid to ore exploration. *Journ. of geotechnical Exploration*. **15**, p. 21-36.

D.H. Landers *et al.* (1983). Analysis of organic and inorganic sulfur constituents in sediments, soils and water, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 14 : 245.

K. Brunt (1984). Rapid determination of sulfide in waste waters by continuous flow analysis and gas diffusion and a potentiometric detector, *Analytica Chimica Acta*, 163 : 293.

L. Campanella *et al.* (1995). New enzyme sensor for sulfite analysis in sea and river water samples, *Analytica Chimica Acta*, 305 : 32.

M. Nedjma and A. Maujean (1995). Improved chromatographic analysis of volatile sulfur compounds by the static headspace technique on water-alcohol solutions and brandies with chemiluminescence detection, *Journal of Chromatography A*, 704 : 495.

H. Tang and P. Heaton (1996). Analysis of volatile trace sulfur compounds in water with GC-SCD by direct aqueous injection, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 62 : 263.

Y. Asai *et al.* (1998). Sensitive analysis of thiosulfate and polysulfides in body fluids by GC/FPD, *Journal of Toxicology – Toxin Reviews*, 17 : 97.

R. Simo (1998). Trace chromatographic analysis of dimethyl sulfoxide and related methylated sulfur compounds in natural waters, *Journal of Chromatography A*, 807 : 151.

L. Ferrer *et al.* (2005). Flow-through optical fiber sensor for automatic sulfide determination in waters by multisyringe flow injection analysis using solid-phase reflectometry, *Analyst*, 130 : 644.

Chapitre A-13 (Contrôle de la désinfection)

G.M. Eisenberg (1943). Colorimetric determination of hydrogen peroxide. *Industrial and Engineering Chemistry*, 15 : 327.

A. T. Palin (1967). Diethyl-*p*-phenylene diamine method for residual bromure. *J. Inst. Water Eng.*, **21**, p. 544.

A. T. Palin (1970). Determining chlorine dioxide and chlorite. *J.A.W. W.A.*, **62**, (8), p. 483.

R. Bauer, C. O. Rupe (1971). Use of a syringaldazine in a photometric method for estimating «free» chlorure in water. *Analytical Chemistry*, **43**, (3), p. 421-425.

B. Saunier, F. Roger (mars 1972). La stérilisation des eaux de piscine par le brome. *T.S.M. l'eau*, p. 113.

R. Bauer, B. F. Phillips, C. O. Rupe (1972). A simple test of estimating free chlorine. *Analytical Chemistry*.

A. T. Palin (1974). The application of the DPD methods to the determination of chlorine dioxyde and chlorite in water with special reference to a modified titrimetric procedure. *J. Inst. Wtr. Engrs*, **28**, p. 139.

W. J. Cooper, C. A. Sorber, E. P. Meier (janvier 1975). A rapid specific free available chlorine test with syringaldazine (FACTS). *Water Technology Quality*, p. 34-39.

A. T. Palin (janvier 1975). Current D.P.D. methods for residual halogen compounds and ozone in water *J.A.W.W.A.*, p. 32.

M. de Rouville, J. Rodier, L. Rodi (mars 1976). Possibilités et limites de la désinfection des eaux usées urbaines. *Technique de l'eau,* **351**, p. 37-47 ; avril 1976, **352**, p. 35-39.

B. Saunier (mai 1977). La cinétique de la chloration au point de rupture : application à l'élimination de l'ammoniaque des eaux potables et des eaux usées. *Tribune du CEBEDEAU*, **402**, p. 228.

L. Brener (mai 1977). Méthode de dosage de l'ozone dans l'air et dans l'eau. *3 e Congrès de l'international Ozone Institute*, Paris.

R. Stettler (1977). Utilisation de l'ozone dans le traitement des eaux de boisson Gaz, Eaux, Eaux usées, **1**, p. 81-94.

B. Saunier, R. E. Selleck (mai-avril 1977). La cinétique de la chloration au point de rupture dans les réacteurs en débit continu. *La Technique de l'Eau et de l'Assainissement*, **363**, p. 17 ; **364**, p. 13.

A. T. Palin (février 198). Analytical note: a new DPD – Steadifac method for specific determination of free available chlorine in the presence of high monochloramine. *J.A.W.W.A.*, p. 121-122.

B. Saunier, A. Derreumaux (22 février 1980). Procédé d'analyse, au moyen d'un réactif coloré, de préférence la diéthyl-paraphénylène-diamine, des formes libres des halogènes en solution dans l'eau en présence de stabilisant et sans interférence des formes combinées. Brevet d'invention n° 80 03 896.

H. Bader and J. Hoigne (1981). Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Research*, 15 : 449.

B. Saunier, Y. Régnier (1981). Mesure ampérométrique en continu du chlore libre, de l'acide hypochloreux et du chlore combiné sans interférence. *Eau et Industrie*, **56**, p. 43-49.

H. Bader, J. Hoigne (1982). Determination of ozone in water by the indigo method. A submitted standard method. *Ozone : Sci. Eng.*, **4**, p. 169.

H. Bader and J. Hoigne (1982). Determination of ozone in water by the indigo method. A submitted standard method. *Ozone Science and Engineering*, 4 : 169.

P. Scotte (avril 1982). Le dosage de l'acide isocyanurique dans les eaux de piscine. *Eau et Industrie*, **64**, p. 36-38.

J. M. Fiquet (1982). Dosage de la monochloramine à la N, N′ diéthyl-*p*-phénylène diamine (DPD) influence de traces d'iodure. *T.S.M. L'Eau*, p. 243-249.

C. Madec, B. Trebern, J. Y. Cabon, J. Courtot-Coupez (1983). Principales méthodes de dosage des oxydants résiduels produits par la chloration des milieux naturels. *Analusis*, **11**, (9), p. 363-379.

E. Gilbert et J. Hoigne (1983). Messung von Ozon in Wasserwerken ; Vergleich der DPD-und Indigo-Methode. *GWF-Wasser/abwasser*, **124**, p. 527.

M. R. Straka, G. E. Pacey, G. Gordon (1984). Residual ozone determination by flow injection analysis. *Anal. Chem.*, **56**, p. 1973.

M. R. Straka, G. Gordon et G. E. Pacey (1985). Residual aqueous ozone determination by gas diffusion flow injection analysis. *Anal. Chem.*, **57**, p. 1799.

W.J. Masschelein (1989). Determination of residual ozone or chloride dioxide in water with ACVK * An updated version. Ozone Science and Engineering, 11:209.

M. Dore (1989). Chimie des oxydants & Traitement des eaux, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

A. Jadas-Hécart, A. El Morer, M. Stitou, P. Bouillot, B. Legube (1992). Modelisation de la demande en chlore d'une eau traitée. *Water Research*, 26 : 1073.

J. K. Debowski and F. A. Gerber (1993). Determination of isocyanuric acid and its chlorinated derivatives in swimming pool waters by ion chromatography. *Journal of Chromatography A,* 6 : 400.

G. Golaszewski and R. Seux (1994). The kinetics of the action of chloroisocyanurates on three bacteria : *pseudomonas aeruginosa, streptococcus faecalis* and *staphylococcus aureus*. *Water Research,* 28 : 207.

U. Pinkernell *et al.* (1994). Determination of peoroxyacetic acide using high-performance liquid chromatography with external calibration. *Analytical Chemistry*, 66 : 2599.

U. Pinkernell *et al.* (1996). Rapid high-peformance liquid chromatography method for the determination of peroxyacetic acid. *Journal of Chromatography A,* 730 : 203.

K. Carlsson *et al.* (1999). The miniaturisation of the standard method based on the *N*, *N′*-diethyl-*p*-phenylenediamine (DPD) reagent for the determination of free or combined chlorine. *Water Research*, 33 : 375.

G.L. Emmert *et al.* (2000). Studies of the selectivity of amaranth method for chlorine dioxide. *Talanta*, 51 : 879.

APHA and coll. (septembre 2001), Standard methods for the examination of water and waste-

water (2001). Décret 2001-881 du 25 septembre 2001 (JO du 27 septembre 2001) portant application de l'article L 214-1 du code de la consommation en ce qui concerne les préparations, les concentrés et les eaux de Javel.

M. Tachikawa *et al.* (2002). Effects of isocyanuric acid on the monochlorodimedone chlorinating rates with free chlorine and ammonia chloramine in water. *Water Research,* 36 : 2547.

T. Rowhani and A. Lagalante (2007). A colorimetric assay for the determination of polyheamathylene biguanide in pool and spa water using nickel-nioxime. *Talanta*, 71 : 964.

B

Analyse microbiologique des eaux

1 • GÉNÉRALITÉS

Les bactéries sont ubiquitaires dans la nature, elles se trouvent dans tous les milieux ; air, sol, eau et même dans/sur d'autres êtres vivants. Chez les humains on les dit alors commensales. Elles peuvent faire partie des flores cutanée, digestive, buccale, génitale.

Une minorité est pathogène et certaines ne le sont que dans certaines conditions.

Une telle diversification des espèces générées au cours de l'évolution est favorisée par un taux de multiplication élevé. La sélection a permis la conservation d'individus aux voies métaboliques adaptées à une infinie variété de substrats et résistants à des conditions hostiles (température, salinité, acidité, etc.). Ces innombrables espèces jouent dans la biosphère un rôle géochimique majeur, occupant toutes les niches écologiques, et intervenant dans le recyclage des éléments (carbone, oxygène, azote, soufre, etc.), dans la minéralisation de la matière organique (hétérotrophes), dans l'assimilation des éléments minéraux (autotrophes, photosynthèse). Les eaux font donc partie des éléments avec l'air et les sols, qui soit hébergent des espèces autochtones soit véhiculent des bactéries en transit éliminées par l'homme, les animaux et les plantes.

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes soit, ce qui est souvent plus aisé, celles qui les accompagnent et qui sont en plus grand nombre souvent présentes dans l'intestin des mammifères et sont par leur présence indicatrices d'une contamination fécale et donc des maladies associées à la contamination fécale. On peut noter que l'absence de contamination fécale ne laisse en rien présager l'absence d'espèce potentiellement pathogéne (exemple : légionelles, pseudomanas…).

L'analyse débute par l'acte de prélèvement qui doit mettre en œuvre des méthodes propres à assurer l'absence de contamination de l'échantillon et la survie bactérienne (conditions de conservation). Sont indiquées ensuite les méthodes générales d'examen bactériologique des eaux du laboratoire ; enfin, est présenté un choix de techniques appliquées à la recherche des bactéries indicatrices de pollution et d'efficacité de traitement (bactéries aérobies revivifiables, coliformes totaux, coliformes thermotolérants, enterocoques, anaérobies sulfito-réducteurs), puis des bactéries spécifiques, pathogènes strictes ou pathogènes opportunistes.

Cette analyse est importante car la qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet à fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents et représentant la cause la plus fréquente de non potabilité de l'eau.

2 • MÉTHODES GÉNÉRALES DE PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION

Un examen bactériologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes.

2.1 Matériel de prélèvement

2.1.1 Choix et stérilisation des récipients

Le récipient utilisé doit assurer, une fois bouché, une protection totale contre toute contamination. Il ne doit pas céder à l'échantillon de substances toxiques vis-à-vis des bactéries. On peut utiliser des flacons en verre de 250, 500 ou 1 000 mL, de préférence borosilicatés, à bouchage émeri. Avant l'usage, ces flacons doivent être soigneusement lavés, puis rincés car il ne doit rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique. Ils sont ensuite séchés puis bouchés au coton cardé ; il est recommandé d'apposer une étiquette permettant d'inscrire ultérieurement l'identification du prélèvement. Le bouchon émeri, destiné à la fermeture après le prélèvement est lavé, rincé, séché, puis enveloppé séparément dans un morceau de papier filtre. Il est avantageux, pour la commodité des manipulations ultérieures, d'utiliser des bouchons à méplat. Le bouchon empaqueté et le flacon sont alors enveloppés de papier filtre et stérilisés soit à l'autoclave (120 °C) durant 15 minutes, soit au four Pasteur (170 °C) durant 1 heure. Il est souhaitable de disposer chaque flacon dans un étui métallique adapté à sa taille, pour assurer sa protection durant les transports et éviter la déchirure de l'enveloppe de papier filtre.

Les opérations de prélèvements à l'aide d'un flacon ainsi présenté peuvent apparaître complexes à un opérateur inexpérimenté. Il est préférable, dans ce cas, d'utiliser un conditionnement simplifié : pour cela obturer directement le goulot du flacon par le bouchon rodé correspondant en prenant soin toutefois de disposer une longue bande de papier filtre à cheval sur le méplat et de l'introduire dans le rodage du goulot et dans celui du bouchon pour éviter le grippage au cours de la stérilisation.

Remarques

— Dans le cas de prélèvements d'eaux chlorées, bromées ou ozonées, le désinfectant peut, au cours du transport, continuer d'exercer son

action sur les bactéries éventuellement présentes, et il est nécessaire de le détruire. Ajouter dans le flacon de prélèvement avant sa stérilisation, du thiosulfate de sodium à raison de 17,5 mg/L (environ 8 mg par flacon de 500 mL). Pour les prélèvements d'eau de piscine, la quantité de thiosulfate sera de 50 mg/500 ml (le flaconnage dans ce cas sera stérile à l'intérieur comme à l'extérieur). Procéder éventuellement à cette addition dans le flacon au moment de l'échantillonnage, après vérification de la présence du désinfectant ; mais la solution doit alors être parfaitement stérile et cette opération complémentaire complique la manipulation (la présence de thiosulfate, aux quantités indiquées, n'est pas gênante pour les analyses bactériologiques d'eau dépourvue de chlore).

– Il existe dans le commerce des flacons en matières plastiques, à usage unique, à bouchon vissé avec joint, stérilisés par l'oxyde d'éthylène ou irradiation (1 à 2 . 10^5 Gy) et pouvant contenir du thiosulfate de sodium. Vérifier dans chaque lot la stérilité de quelques flacons, ainsi que l'absence d'éthylène résiduel.

2.1.2 Appareils de prélèvement

Lorsque l'échantillon est prélevé à un robinet, au griffon d'une source, au bord d'une rivière, il n'est pas nécessaire de disposer d'appareils particuliers : le flacon peut être tenu directement par la main de l'opérateur. Il n'en est pas de même lorsque le prélèvement doit être fait dans un puits, au centre d'un cours d'eau, en profondeur dans un lac, dans une piscine.

Plongeur

Il s'agit d'un appareil lesté, auquel est fixé le flacon de prélèvement et qui permet d'entraîner celui-ci au-dessous de la surface de l'eau, suspendu à une corde ; cet appareil peut être descendu au fond d'un puits (du bord de la margelle), dans un cours d'eau (d'un pont), en profondeur dans un lac (d'un bateau).

Un modèle aisément réalisable est constitué essentiellement d'un étui métallique analogue à celui conseillé pour le transport des échantillons, et dont la hauteur intérieure est très légèrement supérieure à celle du flacon qu'il contient. Quelques trous à la partie inférieure permettent l'évacuation de l'eau entourant le flacon, lors de la remontée de l'appareil au-dessus de la surface. Au fond de l'étui métallique, du plomb assure le lestage. Une anse permet de l'attacher par un mousqueton à une cordelette d'environ 50 cm, munie à l'autre extrémité d'une boucle. Sur cette anse, des ergots assurent le maintien du flacon dans l'appareil lors de la plongée. Lorsque l'anse est rabattue ils s'effacent du dessus du plongeur permettant ainsi l'introduction ou le retrait du flacon. Le bouchage du flacon est assuré par l'un des deux procédés décrits précédemment. L'ensemble (appareil, flacon, cordelette) est entouré d'un papier filtre. Disposer à l'extrémité supérieure de ce conditionnement la partie distale (boucle) de la cordelette et éventuellement le bouchon rodé entouré de son enveloppement de papier filtre. Stériliser l'ensemble à l'autoclave ou au four Pasteur.

Canne de prélèvement

Elle peut être constituée de segments métalliques (montants de tentes par exemple), d'environ 50 cm s'ajustant les uns au bout des autres. Au dernier,

est soudée une pince de laboratoire permettant le maintien du flacon de prélèvement. La longueur de l'ensemble est évidemment variable, mais il est difficile de manipuler des perches qui dépassent notablement 2 m.

Cette canne peut être utilisée pour les prélèvements en piscine (prélèvement réalisé à 30 cm sous la surface).

2.2 Méthodes générales de prélèvement

L'échantillon destiné à l'analyse est prélevé de façon à être le plus exactement possible représentatif du milieu d'où il provient.

Se référer également au paragraphe A-1.1.

2.2.1 Prélèvement à un robinet

Dans ce cas, la manipulation s'effectue dans les meilleures conditions de stérilité. Avant de procéder au prélèvement proprement dit :

– enlever les brise-jets et tuyaux de caoutchouc adaptés au robinet choisi, débarrasser celui-ci le cas échéant des concrétions calcaires, qui ont pu s'y déposer ;

– se laver très soigneusement les mains et avant-bras, les rincer à l'alcool, laisser sécher ;

– flamber le robinet pendant au moins 1 minute, en utilisant, par exemple, une lampe à souder portative au gaz butane ;

– ouvrir le robinet et laisser couler 3 à 5 minutes avant de faire le prélèvement. Durant cette attente, et durant le prélèvement, il est utile qu'un assistant maintienne la lampe à souder allumée, un peu au-dessus du robinet ; l'opérateur, dans ses manipulations, pourra l'utiliser comme un bec bunsen au laboratoire.

Lorsque le prélèvement est fait par un manipulateur averti, disposant d'un récipient d'échantillonnage présenté dans le conditionnement normal décrit précédemment, procéder ainsi :

– dégager de l'empaquetage stérile, le sommet du flacon, ce qui libère le paquet spécial du bouchon ;

– vérifier que ce paquet est intact, tenir le bouchon de la main gauche par la partie ronde que l'on sent à travers le papier, déchirer celui-ci pour saisir le méplat par le petit doigt replié de l'autre main, selon le geste bactériologique habituel, dégager complètement le bouchon de son enveloppe, le maintenir de cette façon, rodage en bas, si possible près de la flamme durant tout le prélèvement ;

– prendre le flacon de la main gauche, l'approcher des doigts libres de la main droite, enlever avec ceux-ci le coton bouchant le goulot ;

– flamber rapidement le bord de ce goulot ; remplir presque entièrement le flacon, flamber à nouveau rapidement le bord du goulot, et mettre le bouchon.

Si un conditionnement simplifié est utilisé, tenir le flacon de la main gauche, dégager le flacon de son enveloppe, saisir le méplat, retirer le bouchon (ce

qui fait tomber la bandelette de papier évitant le grippage) et le maintenir près de la flamme durant le remplissage du flacon. Pour celui-ci et le reste de la manipulation, procéder selon les indications ci-dessus.

Le prélèvement terminé, inscrire sur l'étiquette les indications nécessaires à l'identification du prélèvement. Replacer le flacon dans son enveloppe de papier, en protégeant préférentiellement le bouchon et le goulot. Sur une feuille annexe, noter tous les renseignements utiles à l'interprétation de l'analyse. Introduire le tout, éventuellement, dans l'étui métallique.

2.2.2 Prélèvement dans un puits à l'aide d'un plongeur

Utiliser un plongeur stérile enveloppé de son papier protecteur et d'une corde, de longueur adaptée à la profondeur du puits, terminée par un mousqueton. Poser le plongeur sur le sol (recouvert d'un papier ou tissu propre), déchirer la partie supérieure du papier de façon à dégager d'une part le paquet du bouchon, d'autre part la boucle de la cordelette. Engager cette boucle dans le mousqueton de la corde, dégager de la main gauche toute la partie supérieure de l'appareil et notamment le goulot du flacon. Durant ces manipulations prendre soin de ne pas mettre la cordelette en contact avec le sol. Enlever le coton obturant le goulot, soulever l'appareil, le dégager totalement du papier protecteur et le descendre lentement dans le puits, en évitant de toucher les parois de celui-ci.

Si le prélèvement est fait à environ 50 cm de la surface, cas le plus fréquent, arrêter la descente peu avant que le mousqueton, reliant corde et cordelette, n'atteigne cette surface.

Lorsque le flacon est plein (aucune bulle ne sortant du plongeur), remonter l'appareil, dégager le flacon en le prenant par la base du goulot (l'anse du plongeur étant abaissée pour dégager l'ouverture), vider un peu d'eau, flamber éventuellement le bord du goulot, et l'obturer avec le bouchon dégagé de son paquet (*).

2.2.3 Prélèvement dans une rivière

Lorsque le prélèvement doit être fait d'un pont, procéder comme dans le cas précédent, en tenant compte cependant du courant de la rivière (se placer du côté aval du pont). En outre, le courant emportant rapidement le plongeur, il y a lieu lorsque celui-ci est descendu presque jusqu'à la surface, de dégager environ 1 m de corde et de lâcher brusquement le plongeur qui pénètre rapidement au sein du liquide et peut partiellement se remplir avant d'être entraîné par le courant à la surface de la rivière. Recommencer deux ou trois fois cette opération, si nécessaire, jusqu'au moment où l'absence de bulles témoigne du remplissage du flacon.

2.2.4 Prélèvement dans un lac ou une rivière profonde

Procéder de la même façon. Pour obtenir un échantillon à une profondeur fixe, il est nécessaire d'avoir un lestage important, de dégager la longueur de corde correspondant à la profondeur choisie et de laisser tomber brus-

(*) Si le prélèvement est effectué à une profondeur supérieure à 50 cm, et si toute contamination doit être éliminée (cas de sources d'eaux minérales par exemple), stériliser la corde ou disposer d'une cordelette plus longue.

quement le plongeur. Si le goulot est étroit, le volume du flacon suffisamment important, la profondeur relativement faible, la quantité d'eau pénétrant au cours de la descente est négligeable. Il est possible d'utiliser des appareils spéciaux ne s'ouvrant qu'une fois la profondeur désirée atteinte, et qui autorisent une meilleure précision. Dans le cas d'une rivière profonde, où existe un courant notable, il est nécessaire que cet appareil soit d'un poids très élevé et d'une forme particulière pour échapper dans une certaine mesure à l'entraînement par le courant. Il s'agit d'instruments de prix élevé, dont la description et l'utilisation dépassent le cadre de ce manuel.

2.2.5 Prélèvement aux griffons des sources

Il convient d'isoler en premier lieu le point d'émergence de l'eau, et de préparer un emplacement de captage, soit en enfonçant dans le griffon un tuyau qui canalisera l'eau et facilitera le prélèvement soit, si l'eau sort sans jaillissement du sol, en aménageant une rigole. De toute façon, ces manipulations ne doivent jamais être faites immédiatement avant le prélèvement, mais au moins 24 heures à l'avance.

2.3 Prélèvements avec concentration de la population bactérienne (méthode de Moore) par adsorption sur de la gaze hydrophile

Ces types de prélèvements sont utilisés pour rechercher une espèce bactérienne qui risque de ne se trouver qu'en très faible quantité dans l'eau à analyser. C'est le cas par exemple des recherches de bactéries pathogènes comme les *Salmonella* dans les rivières ou les eaux de distribution publique. La concentration est obtenue par des dispositifs qui captent les bactéries contenues dans un très grand volume d'eau et permettent de les isoler de ce milieu liquide.

■ Principe

Obtenir un échantillon enrichi en bactéries en utilisant le liquide d'expression d'un tampon de gaze hydrophile immergé dans un courant de l'eau à étudier, pendant un temps donné.

2.3.1 Prélèvement dans les eaux de surface

□ Matériel spécial

– Tampon. Dans une pièce de gaze de 3 × 0,64 m, découper six morceaux de 0,64 × 0,50 m et les superposer. De part et d'autre d'une zone médiane de 0,50 m sur environ 0,08 m et perpendiculaire à elle, découper de chaque côté des bandes d'environ 0,28 × 0,10 m. Replier les deux côtés l'un sur l'autre et ensuite les bandes en accordéon. Attacher solidement le tout par un cordon, d'abord passé entre les deux côtés, au voisinage de la pliure médiane, puis serré extérieurement de manière à former une sorte de « tête » ; les extrémités libres sont attachées pour former une boucle.

Ainsi, se trouve réalisé un tampon composé de 72 lambeaux réunis ensemble à l'une de leurs extrémités et libres à l'autre. Les décoller les uns des autres afin de donner au tampon un plus grand volume et de permettre un meilleur passage de l'eau et surtout une meilleure fixation des particules et bactéries. Chaque tampon empaqueté dans un papier filtre est stérilisé par séjour au four à 150 °C pendant 2 heures.

– Lest. 5 kg au moins, avec un système d'anneau permettant l'attache de la corde.

– Corde. En nylon, ou mieux en tergal de 6 mm de diamètre. Une longueur de 10 m est à prévoir.

– Mousqueton. Fort, de 6 à 7 cm de long, en bronze ou en inox, muni d'un « émerillon ». Par rapport au lest, fixé à l'extrémité de la corde, le mousqueton destiné à recevoir la boucle du cordon maintenant la « tête » du nouet de gaze est placé de manière que le tampon puisse flotter à environ 1 m au-dessous de la surface de l'eau.

■ Mode opératoire

Pose

Choisir l'emplacement de manière à ce que le câble soit fixé solidement au bord de la rivière et à l'abri de la curiosité des passants. Le courant, en cet endroit, doit être suffisant pour qu'il y ait circulation d'eau à travers ou sur le tampon, mais cependant pas trop fort pour éviter qu'il soit « lavé ». En aucun cas le tampon ne doit être immergé dans une eau immobile.

Retrait

Après un temps de contact de 24 heures en moyenne, retirer la tampon avec les précautions requises pour éviter toute contamination étrangère, et le placer dans un bocal stérile ; libérer la boucle du cordon du mousqueton pour que le tampon tombe directement dans le bocal ; se munir d'une paire de gants stériles en cas d'incident. Au cours du repêchage, procéder de manière à ce que la tampon reste bien imprégné d'eau.

Extraction

À l'arrivée au laboratoire, déposer le tampon de gaze dans une cuvette stérile d'un diamètre de 25 cm environ. Toutes les manipulations d'extraction doivent être faites avec des gants stériles. Décoller les bandes les unes des autres, puis malaxer l'ensemble du tampon vigoureusement avec les deux mains, de manière à exprimer le maximum de liquide. Un rinçage terminal avec 50 mL d'eau permutée stérile complète l'opération. Recueillir la totalité de l'extrait (de l'ordre de 350 mL) dans un flacon ou une éprouvette stérile. L'ensemencement doit être immédiat.

2.3.2 Prélèvement au robinet de distribution

□ Matériel spécial

– Tampon. Préparé de la façon décrite précédemment.

– Tube de plastique. Utiliser un tube de plastique d'environ 35 à 40 cm de longueur et 10 cm de diamètre bouché aux deux extrémités par un couvercle vissé avec des joints étanches. Chaque couvercle porte en son centre une embouchure de 1 cm de diamètre environ et de 2 à 3 cm de longueur, sur laquelle peut être fixé un tuyau, reliant le tube, d'une part au robinet de distribution, d'autre part à un évier, ou à un quelconque système d'évacuation des eaux. Le tampon de gaze doit être fixé, par sa partie supérieure, à l'extrémité du tube relié au robinet. Introduire le tampon de gaze dans ce tube. Stériliser à l'autoclave.

Mode opératoire

Adapter le tube à un robinet de distribution après avoir stérilisé celui-ci à la flamme. Ouvrir le robinet et assurer une lente circulation de l'eau dans le tube : un débit trop rapide gênerait la fixation des particules solides ou risquerait d'entraîner celles déjà fixées.

Il est facile de mesurer le débit d'eau circulant dans le tube et d'après celui-ci, en fonction de la durée du passage à travers ce dispositif, d'apprécier le volume ayant traversé le système durant le temps de l'expérience.

La gaze peut être transportée au laboratoire dans le tube lui-même, dans les conditions de température et de temps de transport indiquées ci-après.

2.4 Transport et conservation au laboratoire

La teneur initiale en germes des eaux risque de subir des modifications dans le flacon, après le prélèvement. C'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible. L'évolution est d'ailleurs assez difficile à prévoir et dépend de nombreux facteurs : température, concurrence bactérienne des espèces présentes, composition chimique de l'eau. À ce sujet la circulaire du 21 janvier 1960, relative aux méthodes d'analyse bactériologique des eaux d'alimentation spécifie : « si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10 °C, les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon ».

Aux États-Unis, pour les eaux d'alimentation, ce délai a été porté à 30 heures et les échantillons peuvent être envoyés par la poste en utilisant un système de conservation au froid. Il est admis par ailleurs que plus la pollution microbiologique est grande, plus le délai de conservation doit être court. Les *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* indiquent que les échantillons prélevés dans les eaux de surface polluées doivent être acheminés en moins de 6 heures au laboratoire. Cependant des travaux ultérieurs ont montré que les résultats obtenus n'étaient statistiquement pas différents après une conservation de 24 heures. Des travaux français aboutissent à ces mêmes conclusions.

Selon les normes françaises et européennes, les échantillons doivent être maintenus à une température comprise entre 1 et 4 °C dès leur prélèvement. Ils doivent être remis le jour même au laboratoire chargé des analyses. En l'absence de prescription particulière, l'ensemencement doit être réalisé le plus rapidement possible.

Il est donc admis que le délai maximum entre le prélèvement et le début de l'analyse ne doit pas excéder 24 heures, l'échantillon étant maintenu à moins de + 4 °C et qu'il est préférable de raccourcir ce délai lorsque l'eau est présumée très polluée.

Après la prise d'essai, il est recommandé de placer le reste du prélèvement non utilisé au réfrigérateur. Il peut arriver en effet que les premières lectures

bactériologiques, 24 ou 48 heures après l'ensemencement, donnent des résultats inattendus, incitant à vérifier l'analyse. Un tel examen de contrôle n'aura évidemment qu'une valeur indicative, utile cependant à un bactériologiste très averti pour juger de l'opportunité d'un nouveau prélèvement. Mais aucune valeur ne pourrait être accordée à une vérification pratiquée sur des échantillons conservés à la température du laboratoire.

Méthodes de référence

NF EN ISO 19458 (novembre 2006). Qualité de l'eau – Échantillonnage pour analyse microbiologique.

NF EN ISO 5667-3 (juin 2004). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 3 : lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau.

3 • MÉTHODES GÉNÉRALES D'EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX

Un jugement sur la qualité bactériologique d'une eau ne peut être porté une fois pour toutes, à la suite d'une analyse initiale ; il doit, au contraire, dépendre d'une surveillance analytique qui ne peut, actuellement, être continue pour des raisons techniques ou financières, mais qui doit comporter une fréquence souvent importante d'examens. Les méthodes d'analyse doivent donc être praticables en grandes séries, et avoir le plus bas prix de revient.

Dans la plupart des examens usuels, l'analyse bactériologique n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative. Dans les eaux très polluées, il convient donc de pratiquer de nombreuses dilutions (eaux de rivière, eaux usées, etc.). Dans d'autres cas, comme dans celui des eaux destinées à l'alimentation, au thermalisme, à la baignade, les exigences réglementaires imposent une sensibilité telle qu'une concentration est au contraire nécessaire (absence de bactéries dans 100, 250, 1 000 mL).

Ces déterminations qualitatives et quantitatives sont établies à partir :

– soit d'un dénombrement direct des colonies après concentration par filtration ou inoculation d'un volume donné de l'échantillon en milieu solide ;

– soit d'une évaluation par calcul statistique du nombre le plus probable d'unités infectieuses (NPP), après répartition de l'inoculum dans un certain nombre de tubes de milieu de culture liquide ou dans des puits de microplaques contenant un substrat nutritif déshydraté, et en tenant compte du nombre respectif de cultures « positives » ou « négatives » obtenues.

Le choix de la méthode dépendra de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées.

3.1 Méthodes générales de dénombrement après concentration

3.1.1 Concentration in situ par adsorption

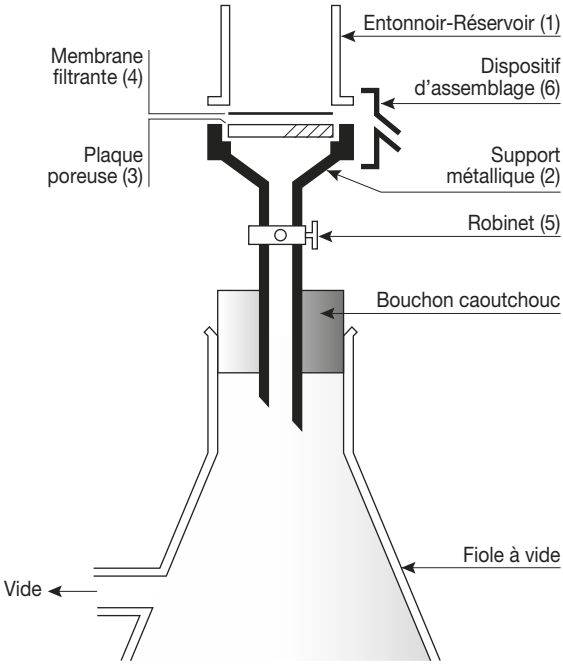
Se reporter au prélèvement avec concentration bactérienne par adsorption sur de la gaze hydrophile (B.2.3).

3.1.2 Concentration au laboratoire par filtration sur membranes

C'est la technique de concentration la plus utilisée au laboratoire. Le plus généralement, on procède à une filtration sur membranes en esters de cellulose, de porosité 0,22 μm ou 0,45 μm, susceptibles de retenir les bactéries.

Matériel pour filtration sur membranes

Plusieurs modèles d'appareil de filtration sont commercialisés. Ils comprennent tous les éléments de base suivants, dont l'assemblage est schématisé dans la figure ci-dessous.



Coupe schématique d'un appareil de filtration sur membranes

– Un entonnoir-réservoir (1) cylindrique ou conique, en acier inoxydable ou plastique à usage unique, de taille variable généralement de 50 à 500 mL, gradué. Ce réservoir est destiné à être appliqué exactement sur la surface plane, cylindrique, du support métallique lui servant de base.

– Un support métallique (2) formant une sorte de cuvette conique dont le bord supérieur reçoit une plaque poreuse (3) (généralement de 50 mm de diamètre) destinée à supporter une membrane filtrante (4) de même diamètre. La partie inférieure de la cuvette est prolongée par un tube creux, muni d'un robinet (5), permettant le passage d'une aspiration par trompe à vide et l'évacuation du liquide filtré.

– Un dispositif d'assemblage (6) des deux pièces précédentes, variable selon le modèle d'appareil (collier de serrage, pince amovible, clip, etc.) permet de solidariser réservoir et support et d'assurer l'étanchéité, en évitant toute fuite du liquide contenu dans le réservoir.

– Un matériel de liaison supportant l'ensemble de cet appareil de filtration et le reliant à un dispositif d'obtention du vide. Dans sa version la plus simple, représentée sur le schéma, il consiste en une fiole à vide en verre, de capacité suffisante pour éviter des vidanges trop fréquentes de l'eau filtrée (5 litres par exemple), reliée à une trompe à eau ou une pompe à vide par l'intermédiaire d'un flacon de garde, muni d'un manomètre.

Dans des dispositifs plus complexes, la fiole à vide est remplacée par une rampe supportant plusieurs appareils de filtration. La face supérieure du support métallique et la plaque poreuse au contact avec la face supérieure de la membrane sont généralement stérilisées à la flamme.

Le réservoir peut être stérilisé de la même façon. Directement au contact des eaux analysées, son flambage doit être particulièrement soigné ; le refroidissement est alors relativement long, d'où l'avantage des entonnoirs à usage unique.

Les membranes filtrantes utilisées sont généralement constituées par des esters de cellulose ; le diamètre des pores est généralement de 0,45 μm (parfois de 0,22 μm). Un quadrillage en surface facilite les dénombrements bactériens.

■ Technique de la filtration sur membrane

Flamber la face supérieure (plaque poreuse) de l'appareil. Fermer le robinet du support et mettre en marche la pompe à vide. Prélever une membrane stérile en la saisissant par son bord extérieur, avec une pince flambée et refroidie ; la déposer sur la plaque poreuse. L'entonnoir-réservoir flambé et refroidi est placé au-dessus de la membrane. Installer le dispositif de fixation (dans certains modèles d'appareils, ce dispositif, toujours prévu, est inutile, l'adhérence du réservoir sur la membrane étant suffisante). Agiter soigneusement le flacon d'eau à analyser et verser l'eau, stérilement, dans le réservoir jusqu'au repère (50 ou 100 mL selon l'appareil et selon le type d'analyse pratiquée).

Ouvrir le robinet du support suffisamment pour laisser l'eau s'écouler lentement sous l'action du vide. Si le contenu du réservoir correspond à la prise d'essai nécessaire, rincer avec de l'eau stérile (40 à 50 mL) dès la filtration terminée. Sinon, fermer le robinet à ce moment-là, remplir à nouveau le réservoir avec de l'eau à analyser, et rincer lorsque tout l'échantillon a été filtré. Dès que la membrane paraît sèche, fermer le robinet, enlever le dispositif de fixation et, avec la pince à creuset, le réservoir.

Prélever la membrane avec une pince flambée en la saisissant par son extrême bord, et l'introduire sur le milieu de culture choisi ou lui faire subir le traitement selon la méthode utilisée parmi celles qui seront décrites ultérieurement. Lorsque le volume d'échantillon à filtrer est important, et que la teneur en matières en suspension n'est pas négligeable, la membrane peut être colmatée avant l'utilisation complète de la prise d'essai nécessaire à analyser. Plusieurs membranes devront donc être successivement utilisées.

Remarques

– Un matériel permettant de filtrer au lieu même de prélèvement l'échantillon à étudier est commercialisé. La membrane peut alors être placée sur un milieu de transport et transférée après retour au laboratoire sur un second milieu constituant le milieu d'inoculation définitif.

– La membrane peut également être immédiatement placée sur le milieu définitif et aussitôt incubée dans les conditions particulières pour sélectionner les catégories de germes que l'on veut étudier. Utiliser pour cela, des incubateurs pouvant fonctionner dans un véhicule.

3.1.3 Dénombrement sur membrane filtrante

La membrane après la filtration peut être déposée sur la surface d'une gélose. Les bactéries retenues à la surface sont nourries à travers la membrane par les pores de celle-ci.

Dans le cas des eaux d'alimentation ou des eaux de surface de bonne qualité, il n'y a généralement aucune difficulté à filtrer 100 mL. La sensibilité

est donc, dans ce cas, 100 fois supérieure à celle obtenue normalement par incorporation en gélose, 20 fois à celle-ci lorsque l'inoculum peut exceptionnellement être porté à 5 mL. Pour de telles eaux, des volumes plus importants peuvent souvent être filtrés.

Limites de confiance à 95 % attachées au nombre de colonies dénombrées par boîte

Nombre *n* de colonies par boîte	Limites de confiance à 95 %	
	inférieure	supérieure
1	0	4
2	0	6
3	0	8
4	0	9
5	0	11
6	1	12
7	1	14
8	2	15
9	3	16
10	3	18
11	4	19
12	5	20
13	5	21
14	6	23
15	7	24
16	8	25
17	8	27
18	9	28
19	10	29
20	11	30
25	15	36
30	19	42
35	23	48
40	27	54
45	31	60
50	36	65
55	40	71
60	44	77
65	49	82
70	53	88
75	58	93
80	62	99
85	66	105
90	71	110
95	75	116
100	80	121

Les avantages de cette méthode sont ceux indiqués pour l'étalement en surface : absence de choc thermique, différenciation plus aisée des colonies, possibilité de repiquage. En outre, la filtration permet de séparer les bactéries du milieu analysé, donc des éventuels inhibiteurs contenus dans ce milieu. Néanmoins, il n'est pas possible, sur la surface des membranes (généralement de 50 mm de diamètre), de dénombrer valablement plus de 80 à 100 colonies car, au-delà, les phénomènes de confluence et surtout de compétitions sont considérés comme importants. Il convient donc dans ce cas d'effectuer des dilutions.

De plus, la présence abondante de matières insolubles dans l'échantillon filtré (fin dépôt minéral, plancton, etc.) peut colmater les pores, faire obstacle au passage des nutriments et donner ainsi des résultats erronés par défaut.

Le support utilisé pour la membrane peut être soit une gélose pour isolement, le plus souvent sélective en vue de la mise en évidence de germes ou de groupes de germes déterminés ; soit un tampon absorbant imprégné de solution nutritive.

Le dépôt de la membrane sur la gélose ou le tampon absorbant doit être fait avec le plus grand soin, sans permettre à des bulles d'air de séparer en quelque point que ce soit la membrane de son support. Pour cela, saisir la membrane par une pince à son extrême bord, la mettre en contact par l'extrémité opposée avec le support nutritif ; puis la dérouler, en quelque sorte, sur celui-ci, ce qui assure progressivement le contact.

L'expression des résultats se fait sous forme d'un nombre d'unités formant colonies (UFC).

3.2 Méthodes générales de dénombrement direct par numération des colonies après ensemencement sur (ou dans) une gélose nutritive

3.2.1 Caractères généraux

Dans ce type de méthodes, les bactéries maintenues dispersées dans un milieu solide (ou à sa surface), donnent naissance, dans des conditions favorables, à des colonies isolées les unes des autres qui, de ce fait, peuvent être directement comptées. Connaissant le volume d'échantillon ensemencé, il est possible d'exprimer le résultat final du dénombrement en fonction d'un volume d'eau pris comme unité : *x* colonies pour 1 mL, ou *y* colonies pour 100 mL. On admet comme hypothèse de travail que chaque colonie correspond à une bactérie, ce qui d'ailleurs en pratique est loin d'être toujours exact ; plusieurs bactéries s'adsorbent, par exemple, sur une même particule et ne donnent naissance qu'à une seule colonie.

Parfois, la sélectivité du milieu est telle que le premier dénombrement répond immédiatement au but de l'analyse ; le plus souvent les colonies dénombrées (ou une partie d'entre elles) ne sont que « présumées » appartenir au groupe

recherché. Il est alors nécessaire, en principe, de repiquer sur des milieux confirmatifs toutes les colonies suspectes. Quand leur nombre est petit, c'est possible ; s'il est élevé, le travail peut devenir considérable. Il est suffisant, dans ce cas, de confirmer le diagnostic sur un nombre de colonies correspondant à la racine carrée du nombre de colonies suspectes. Le nombre de colonies satisfaisant à cette confirmation, élevé au carré, additionné, éventuellement, du nombre de colonies considérées comme « positives » dès la première culture, correspond au résultat du dénombrement dans la prise d'essai. Il existe deux types de dénombrement sur milieu solide :

– les méthodes par incorporation de la prise d'essai dans la gélose ;

– les méthodes par étalement en surface de la prise d'essai.

Pour toutes les modalités de ces méthodes, la précision et la sensibilité dépendent de certains facteurs qui leur sont communs.

La précision

Elle dépend, entre autres, du nombre de colonies comptées. Parmi les diverses indications statistiques permettant d'évaluer les intervalles de confiance en fonction de ce facteur, citons celles retenues dans *The Bacteriological examination of water supplies* :

– Si le compte de colonies est supérieur à 20, la limite inférieure de cet intervalle est donnée par $c - 2\ (1 + \sqrt{c})$ et la limite supérieure par $c + 2(2 + \sqrt{c})$, formules dans lesquelles c est le nombre de colonies comptées. Ces valeurs ne sont d'ailleurs qu'approximatives.

Selon ces données, ces intervalles sont en moyenne pour un compte de 20 colonies de ± 60 %. Ces moyennes deviennent respectivement ± 50 %, ± 35 %, ± 23 %, ± 15 % et ± 12 % pour des comptages de 30, 50, 100, 200 et 300 colonies.

– Si le compte de colonies est inférieur à 20, les formules précédentes ne peuvent être utilisées. À titre d'exemple, ces intervalles sont de – 52 % et + 84 % pour 10 colonies, – 68 % et + 134 % pour 5 colonies et – 98 % et + 460 % pour une colonie.

La sensibilité

Elle dépend du volume d'échantillon qui peut être utilisé comme prise d'essai. Un *seuil de détection* peut être défini, c'est-à-dire la présence de 1 colonie sur le milieu de culture ; si la prise d'essai ne peut, dans la technique choisie, dépasser 0,1 mL, le seuil de détection sera de 10 germes par mL ; si elle est de 100 mL, elle sera 1 000 fois plus élevée, soit 0,01 germe par mL.

Cependant au seuil de détection, la précision est extrêmement faible. Pour obtenir une précision de l'ordre de 50 %, il faudrait donc compter 30 colonies, ce qui entraîne, dans les exemples choisis, un *seuil acceptable de sensibilité* de 300 et 0,3 germes par 1 mL.

Il est possible d'augmenter ces seuils en multipliant les ensemencements, chacun avec la prise d'essai la plus importante possible pour la technique choisie.

3.2.2 Dénombrement par incorporation en gélose

La méthode fréquemment utilisée (bactéries aérobies revivifiables) consiste à mélanger dans une boîte de Pétri de 90 à 100 mm de diamètre, 1 mL

d'échantillon et 15 mL de milieu gélosé, fondu et ramené à une température de 45 °C environ. Dans ces conditions, le nombre maximum de colonies acceptable pour éviter les phénomènes de confluence et de compétition bactérienne est généralement estimé à 300. Pour avoir une précision de ± 50 %, nécessitant le comptage de 30 colonies, il conviendra donc de procéder à des dilutions dans un rapport de 1 à 10, et la sensibilité de la méthode sera de 30 colonies par mL.

Pour la recherche des bactéries aérobies sulfito-réductrices, on peut mélanger à parties égales échantillon d'eau et milieu à double concentration.

Dans cette technique, le mélange de l'échantillon avec la gélose fondue, même ramené à la température la plus basse possible c'est-à-dire à 45 °C environ, peut provoquer un choc thermique préjudiciable aux bactéries habituées à vivre dans des eaux de température basse. De plus, la culture par incorporation en gélose n'est pas la plus favorable aux bactéries aérobies strictes.

3.2.3 Dénombrement par étalement en surface

Un faible volume d'échantillon est réparti avec un étaleur stérile (pipette Pasteur repliée « en rateau » sur la surface d'une gélose en boîte de Pétri. Pour une boîte de 90 à 100 mm de diamètre, ce volume ne peut guère excéder 0,2 mL. Le seuil de sensibilité sera donc 5 colonies par mL et, pour une précision exigée de ± 50 %, la sensibilité acceptable sera de 150 par mL.

Cette technique a l'avantage de ne pas donner lieu à des chocs thermiques. Elle est particulièrement favorable pour les germes aérobies stricts. Elle permet une différenciation des colonies orientant leur diagnostic et leur repiquage.

3.3 Méthode générale de dénombrement en milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (NPP)

■ Principe

Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (loi de Poisson). Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. En cas de présence, l'ensemble du milieu liquide inoculé vire à la « positivité » (trouble ou virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de la prise d'essai.

La précision s'accroît avec le nombre de replicats par dilution si bien que les microplaques de 12 × 8 puits sont très bien adaptées à la méthode. Celle-ci permet, en fonction du nombre de tubes ou puits « positifs » dans chaque série, d'indiquer la valeur statistiquement la plus probable : « nombre le plus probable » (NPP).

3.3.1 Méthodologie

En pratique, on ensemence des dilutions successives de l'eau à analyser (par exemple 10^0, 10^{-1}, 10^{-2}) à raison de 3 à 5 tubes de milieu de culture liquide par dilution (et jusqu'à 96 puits en cas de manipulation en microplaque). On notera le nombre de tubes inoculés présentant une culture visible indiquant la présence d'au moins un micro-organisme (par exemple 3/3, 1/3 et 0/3 tubes positifs). Il s'agit d'une méthode à réponse quantique (absence ou présence de culture) et non de type énumératif (comptage de colonies). Il doit être tenu compte que si l'absence de culture correspond à l'absence de micro-organismes, plus d'un micro-organisme peut être responsable d'une culture positive. En effet, à forte concentration, tous les tubes inoculés ont reçu plusieurs micro-organismes puis, à l'approche d'une dilution dite « limite », variable selon la concentration de la suspension initiale, certaines unités inoculées n'ayant pas reçu de micro-organismes apparaîtront négatives, tandis que d'autres positives en auront reçu un seul, parfois deux ou trois. La loi de Poisson (probabilité d'apparition aléatoire des événements « rares ») estime la probabilité que plus d'un micro-organisme soit responsable d'une réaction positive aux dilutions auxquelles des cultures négatives commencent à apparaître (zone de transition).

$$P(x) = \frac{m^x}{x!} e^{-m}$$

$P(x)$ = Probabilité de x individus par unité de volume.

m = Moyenne égale à la variance (σ^2) dans cette distribution binomale positive particulière.

Ainsi, la probabilité de 0 individu est $P_{(0)} = e^{-m}$ et celle de 1, 2, 3... individus par unité de volume est $P_{(>0)} = 1 - e^{-m}$ dans un tube positif à la dilution limite.

Mc Crady puis De Man ont proposé le calcul mathématique de l'estimation du NPP de micro-organismes initialement présents dans la suspension, fondé sur un modèle de distribution de Poisson. Le NPP est donné par la résolution de l'équation :

$$\Sigma (n_i - p_i)\ v_i = \Sigma \frac{p_i m_i e^{-v_i d}}{1 - e^{-v_i d}}$$

n_i = Nombre de tubes par dilution.

p_i = Nombre de tubes positifs à cette dilution.

v_i = Volume inoculé par tube.

d = Estimation du NPP.

Les tables, en fonction du nombre caractéristique (nombre de puits positifs pour chaque dilution) indiquent la valeur statistiquement la plus probable et son intervalle de confiance (dans l'exemple choisi, nombre caractéristique : 3 – 1 – 0, 1 mL de chaque solution ayant été ensemencé, NPP = 43/mL, intervalle de confiance 7 à 210).

En pratique, par suite de l'utilisation de milieux sélectifs ou d'une réaction biochimique spécifique, on peut mettre en évidence la présence ou l'absence d'une bactérie appartenant à un groupe particulier : coliformes, entérocoques (on parle aujourd'hui d'entérocoques pour parler de strecptocoques d'origine fécale), *Escherichia coli*, etc.

Si la modification peut provenir de la présence d'autres germes que ceux recherchés, il convient, sur le contenu de chaque tube positif, de procéder à un examen complémentaire, pour confirmer ou non la présence jusqu'alors présomptive des germes recherchés. C'est bien entendu du nombre de ces tubes confirmés « positifs » dans chaque série, dont il est tenu compte pour exprimer le résultat.

Dans les systèmes proposés ci-dessous, les volumes prescrits d'ensemencement atteignent 10 mL. Or, il n'est pas possible d'inoculer à un milieu de culture plus de 10 % de son volume sans risquer de modifier, du fait de la dilution, les conditions de culture. Aussi, est-il préférable d'user d'un artifice, en préparant des milieux à « double concentration » où tous les ingrédients ont été introduits en concentration double de celle prescrite par la formule. L'addition à un tel milieu concentré d'un volume égal d'échantillon d'eau à analyser, rétablit la concentration normale d'utilisation.

3.3.2 Systèmes d'ensemencement

Les cinq systèmes retenus dans ce manuel sont les suivants :

1. Trois tubes sont ensemencés avec chacun 10 mL d'eau, trois autres avec chacun 1 mL d'eau, trois autres avec 0,1 mL d'eau (soit 1 mL d'eau diluée au 1/10).

2. Système analogue au précédent ; mais l'ensemencement porte sur cinq tubes par série au lieu de trois.

3. Cinq tubes sont ensemencés avec chacun 10 mL d'eau, un tube avec 1 mL, un tube avec 0,1 mL (soit 1 mL d'eau diluée au 1/10).

4. Un tube est ensemencé avec 50 mL d'eau, cinq autres avec chacun 10 mL, cinq autres avec chacun 1 mL.

5. Utilisation des 96 puits d'une microplaque pour différentes dilutions.

Effectuer le choix en fonction de la concentration présumée en micro-organismes dans l'eau à analyser et de l'intervalle de confiance souhaité.

Lecture des résultats

La période d'incubation terminée, dénombrer dans chaque série le nombre de tubes positifs. Les éventualités les plus courantes sont indiquées dans les tables ci-jointes.

Pour chacune de ces éventualités sont indiqués :

– le nombre le plus probable (NPP) de germes contenus dans 100 mL de l'échantillon analysé,

– les limites inférieures et supérieures en deça et au-delà desquelles il n'y a que 5 % de chances d'obtenir des valeurs.

Si aucune indication de la table ne correspond aux résultats observés (par exemple dans le système n° 1 : 3 tubes positifs pour les prises d'essai de 10 mL, 0 pour les prises d'essai de 1 mL, 3 pour les prises d'essai de 0,1 mL), il est possible d'indiquer, sous réserves, un résultat par analogie ; il serait préférable, si cela était possible, de procéder à une nouvelle analyse (sur un nouvel échantillon) car le résultat obtenu a tellement peu de chance d'être rencontré, que la possibilité d'une erreur de manipulation doit être envisagée.

L'utilisation de ces systèmes, dans le seul cadre des quantités d'ensemencement indiquées, ne permet pas le dénombrement des germes dans les eaux très contaminées. Mais les systèmes demeurent valables si, diminuant d'une (ou *n*...) puissance de 10, la quantité inoculée dans chaque série, le résultat donné par les tables est également augmenté d'une (ou *n*...) puissance de 10. De même, la sensibilité de la méthode peut être accrue pour les valeurs les plus basses en augmentant d'une ou plusieurs puissances de 10 la quantité d'eau ensemencée dans chaque série et en diminuant de même la valeur du résultat.

C'est ainsi que, dans le premier système, les résultats sont :

– divisés par 10, si l'ensemencement est fait avec 100 – 10 – 1 mL ;

– multipliés par 10, si l'ensemencement est fait avec 1 – 0,1 – 0,01 mL .

– multipliés par 100, si l'ensemencement est fait avec 0,1 – 0,01 – 0,001 mL, etc.

Dans le cas d'analyses d'eaux de qualité bactériologique inconnue, le nombre de séries utilisées peut être augmenté. Quel que soit ce nombre, la règle générale à observer pour qu'une lecture soit correcte est la suivante : la lecture se fait sur trois séries successives d'ensemencements et trois séries seulement ; la série de base retenue est, parmi les séries où les cinq tubes sont positifs, celle correspondant à la plus petite quantité d'ensemencement ; les deux autres sont les deux séries voisines dont tous les tubes ne sont pas positifs. Dans l'exemple suivant :

Première série : + + + + +

Deuxième série : + + + + +

Troisième série : + + – – –

Quatrième série : + – – – –

Cinquième série : – – – – –

les deuxième, troisième et quatrième séries sont retenues pour la lecture, et le résultat donné par la table pour un nombre caractéristique de 5, 2, 1 est 70 NPP.

Il peut arriver, rarement mais non exceptionnellement, qu'il y ait des tubes (ou un tube) positifs à la quatrième série après la série de base. Ces (ou ce) tubes positifs doivent être considérés comme appartenant au troisième niveau.

Le résultat suivant :

Première série : + + + + +

Deuxième série : + + + + +

Troisième série : + + – – –

Quatrième série : + – – – –

Cinquième série : + – – – –

Nombre caractéristique : 5, 2, 1, 1

est à lire comme

Première série : + + + + +

Deuxième série : + + + + +

Troisième série : + + – – –

Quatrième série : + + – – –

Cinquième série : – – – – –

Nombre caractéristique : 5, 2, 2

et le NPP correspondant (lu sur les séries 2, 3 et 4) est : 94.

Choix des systèmes

Dans le système n° 1, les intervalles de confiance sont importants. Aussi est-il préférable de retenir une méthode « à cinq tubes » car la méthode « à trois tubes » par dilution, trop imprécise, est vouée à l'abandon. Ce système couvre une gamme de résultats s'étendant de 1 à 1 000 pour trois séries de dilutions correspondant à l'ensemencement de quinze tubes. Il est possible dans une certaine mesure d'améliorer la précision en accroissant le nombre de tubes par série. Il faut se rappeler que cette amélioration correspond, en raison du nombre de tubes manipulés, à un accroissement proportionnellement plus important du travail et du coût de l'analyse, d'où l'intérêt des micro-méthodes utilisant un total de 96 unités d'inoculation (puits) tout en conservant une charge de travail minime.

Les autres systèmes décrits 3 et 4 utilisent toujours trois séries d'ensemencement mais ces séries sont dissymétriques, et comporte tantôt un tube, tantôt cinq tubes ce qui rend impossible l'addition de séries supplémentaires permettant de choisir *a posteriori* la zone de lecture. Cette zone peut être déplacée en diminuant ou en augmentant l'ensemencement dans la même proportion, mais elle ne peut être étendue. En réalité ces deux systèmes ne sont intéressants que parce qu'ils permettent une économie de tubes à ensemencer, par rapport au système n° 2, pour des eaux dont on prévoit avec assez de probabilité la pollution.

Les anciens systèmes (n° 1 à 4) sont progressivement abandonnés pour le système n° 5, par ensemencement des 96 puits d'une microplaque, qui est la méthode d'avenir et dès maintenant, une référence en matière d'eaux de baignade. La charge de travail est considérablement allégée par l'utilisation :

– de pipettes multicanaux avec réservoir permettant l'ensemencement des 96 puits (100 µL/puits) en quelques secondes,

– de milieux déshydratés pré-déposés au fond des puits,

– de substrats spécifiques de *E. coli* ou *Enterococcus* permettant une lecture-identification rapide.

Toutes ces opérations peuvent être confiées à un automate. La meilleure précision provient de l'utilisation du nombre important d'unités ensemencées (96) ainsi que de *replicata* (de 16 à 64 par dilution). Ce système a apporté une possibilité de standardisation interlaboratoires.

Enfin, rappelons qu'aucune de ces 5 méthodes n'est applicable aux eaux potables (car nécessitant une détermination sur 100 mL).

Système d'ensemencement n° 1 : nombre le plus probable et intervalle de confiance

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
3 tubes de 10 mL	3 tubes de 1 mL	3 tubes de 0,1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	1	3	< 0,5	9
0	1	0	3	< 0,5	13
1	0	0	4	< 0,5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1 300
3	3	1	460	71	2 400
3	3	2	1 100	150	4 800

Système d'ensemencement n° 2 : nombre le plus probable et intervalle de confiance

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
5 tubes de 10 mL	5 tubes de 1 mL	5 tubes de 0,1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	1	2	< 0,5	7
0	1	0	2	< 0,5	7
0	2	0	4	< 0,5	11
1	0	0	2	< 0,5	7
1	0	1	4	< 0,5	11
1	1	0	4	< 0,5	11
1	1	1	6	< 0,5	15
1	2	0	6	< 0,5	15
2	0	0	5	< 0,5	13
2	0	1	7	1	17
2	1	0	7	1	17
2	1	1	9	2	21
2	2	0	9	2	21
2	3	0	12	3	28
3	0	0	8	1	19
3	0	1	11	2	25
3	1	0	11	2	25
3	1	1	14	4	34
3	2	0	14	4	34
3	2	1	17	5	46
3	3	0	17	5	46
4	0	0	13	3	31
4	0	1	17	5	46
4	1	0	17	5	46
4	1	1	21	7	63
4	1	2	26	9	78
4	2	0	22	7	67
4	2	1	26	9	78
4	3	0	27	9	80
4	3	1	33	11	93

Système d'ensemencement n° 2 : nombre le plus probable et intervalle de confiance (*suite*)

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
5 tubes de 10 mL	5 tubes de 1 mL	5 tubes de 0,1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
4	4	0	34	12	96
5	0	0	23	7	70
5	0	1	31	11	89
5	0	2	43	15	114
5	1	0	33	11	93
5	1	1	46	16	120
5	1	2	63	21	154
5	2	0	49	17	126
5	2	1	70	23	168
5	2	2	94	28	219
5	3	0	79	25	187
5	3	1	109	31	253
5	3	2	141	37	343
5	3	3	175	44	503
5	4	0	130	35	302
5	4	1	172	43	486
5	4	2	221	57	698
5	4	3	278	90	849
5	4	4	345	117	999
5	5	0	240	66	754
5	5	1	348	118	1 005
5	5	2	542	180	1 405
5	5	3	918	303	3 222
5	5	4	1 609	635	5 805

Système d'ensemencement n° 3 : nombre le plus probable et intervalle de confiance

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
5 tubes de 10 mL	1 tube de 1 mL	1 tube de 0,1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	0	2	0	5,9
0	1	0	2	0,050	13
1	0	0	2,2	0,050	13
1	1	0	4,4	0,52	14
2	0	0	5	0,54	19
2	1	0	7,6	1,5	19
3	0	0	8,8	1,6	29
3	1	0	12	3,1	30
4	0	0	15	3,3	46
4	0	1	20	5,9	48
4	1	0	21	6,0	53
5	0	0	38	6,4	330
5	0	1	96	12	370
5	1	0	240	12	3 700

Système d'ensemencement n° 4 : nombre le plus probable et intervalle de confiance

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
1 tube de 50 mL	5 tubes de 10 mL	5 tubes de 1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	1	1	< 0,5	4
0	0	2	2	< 0,5	6
0	1	0	1	< 0,5	4
0	1	1	2	< 0,5	6
0	1	2	3	< 0,5	8
0	2	0	2	< 0,5	6
0	2	1	3	< 0,5	8
0	2	2	4	< 0,5	11
0	3	0	3	< 0,5	8
0	3	1	5	< 0,5	13
0	4	0	5	< 0,5	13
1	0	0	1	< 0,5	4
1	0	1	3	< 0,5	8
1	0	2	4	< 0,5	11
1	0	3	6	< 0,5	15
1	1	0	3	< 0,5	8
1	1	1	5	< 0,5	13
1	1	2	7	1	17

Système d'ensemencement n° 4 : nombre le plus probable et intervalle de confiance (*suite*)

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
1 tubes de 50 mL	5 tube de 10 mL	5 tube de 1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	< 0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	69
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	101
1	4	5	43	15	117
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	101
1	5	2	54	18	138
1	5	3	92	27	217
1	5	4	161	39	> 450

Système d'ensemencement n° 5 : nombre le plus probable et intervalle de confiance

a) Se reporter aux tables du fabricant.

b) Nous proposons le programme basic suivant pour calculette, permettant le calcul du NPP.

```
10  CLS:PRINT:PRINT
20  INPUT"   DIL = P    VALEUR DE P, N    ";P1,N1
30  INPUT"   DIL = - 1  VALEUR DE P, N    ";P2,N2
40  INPUT"   DIL = - 2  VALEUR DE P, N    ";P3,N3
50  B=(N1-P1)+(N2-P2)*.1+(N3-P3)*.01
60  D=0:K=1000: FOR I=1 TO 7
70  K=K/10
80  D=D+K
90  IF D>80 THEN M1=0 ELSE M1=P1*EXP(-D)/(1-EXP(-D))
100 M2=P2*.1*EXP(-D*.1)/(1-EXP(-D*.1))
110 M3=P3*.01*EXP(-D*.01)/(1-EXP(-D*.01))
120 A=M1+M2+M3
130 IF A>B THEN 80 ELSE D=D-K
140 NEXT I
150 PRINT:PRINT"   NPP = ";D
```

3.3.3 Avantages et inconvénients des dénombrements sur milieux liquides

La sensibilité de cette méthode est excellente. De plus, comme les variations de la précision sont fonction non de la concentration microbienne dans la prise d'essai mais de la combinaison choisie pour le calcul du NPP, cette précision est indépendante du seuil de détection. La précision, par contre, est décevante. Pour les 53 combinaisons du tableau correspondant au système n° 1, les limites inférieures se situent entre – 68 % et – 88 % par rapport au NPP, mais les limites supérieures ne se situent qu'entre + 127 % et + 268 % par rapport à ce NPP, 25 % étant au-dessous de + 150 % et 25 % supérieures à + 200 %. L'augmentation du nombre de tubes améliore un peu cette précision ; l'utilisation de microplaques permet d'accéder à un total de 96 puits, tout en simplifiant à la fois ensemencement et lecture.

Parmi les inconvénients de cette technique outre l'imprécision, il peut être noté :

– La difficulté de mettre en évidence, dans un milieu liquide une bactérie très minoritaire par rapport à d'autres, qui risque, si le milieu n'est pas suffisamment sélectif en sa faveur, de disparaître du fait de la compétition bactérienne. Dans les méthodes en milieu solide, les bactéries isolées les unes des autres dans la gélose sont plus à l'abri de ce phénomène.

– L'impossibilité d'isoler une bactérie de son milieu, comme il est possible de le faire dans la filtration sur membrane : s'il y a des inhibiteurs de croissance vis-à-vis de bactéries recherchées, ils peuvent empêcher son développement. Cet inconvénient est surtout important quand de grandes quantités d'échantillons sont utilisées pour ensemencer des milieux concentrés, ou même pour dissoudre des milieux déshydratés.

– La lourdeur des manipulations, particulièrement si des séries de 5 tubes sont utilisées, d'autant plus que la technique impose des repiquages pour confirmer la positivité des tubes d'inoculation. Cet inconvénient disparaissant maintenant du fait de l'utilisation de méthodes en microplaques faisant intervenir un indicateur biochimique spécifique (MUG, MUD) ne nécessitant pas de confirmation. Pour les calculs des NPP, se reporter aux tables des fabricants.

Parmi les avantages, il faut citer la possibilité de l'utiliser quand la présence de substances colmatantes interdit une concentration sur membrane et qu'une grande sensibilité, incompatible avec les méthodes d'étalement en surface ou d'incorporation en gélose, est exigée. En outre, dans ce même contexte d'obligation de sensibilité, cette méthode est moins choquante pour les bactéries fragiles que la culture de celles-ci sur membrane : leur nutrition est mieux assurée au sein du liquide, qu'à travers les pores des membranes.

Méthode de référence

NF EN ISO 7218 (octobre 2007). Microbiologie des éléments – Exigences générales et recommandations.

4 • BACTÉRIES INDICATRICES DE CONTAMINATION ET D'EFFICACITÉ DE TRAITEMENT

Dans le domaine de l'hygiène, les analyses bactériologiques concernent souvent, non pas des micro-organismes pathogènes, mais des germes jouant un rôle d'indicateurs sans que leur présence constitue nécessairement un risque en soi pour la santé publique. Sont ainsi distingués deux types principaux d'indicateurs. Les *indicateurs de contamination fécale* permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des micro-organismes pathogènes. Les *indicateurs d'efficacité de traitement* per- mettent d'évaluer la qualité d'un traitement de désinfection de l'eau vis-à-vis de micro-organismes pathogènes dont la présence peut être redoutée dans l'eau brute utilisée. En général, les mêmes germes sont utilisés dans l'une ou l'autre des situations. Si dans ces deux cas, les modalités d'interprétation des résultats sont entièrement différentes, les techniques de mise en évidence sont par contre le plus souvent les mêmes, ou tout au moins très voisines.

Nous grouperons donc dans un seul chapitre l'étude des recherches et des dénombrements de l'ensemble des germes totaux en épifluorescence, des bactéries revivifiables en cultures aérobies, des coliformes, des *Escherichia coli*, des entérocoques, des bactéries sporulées sulfito-réductrices et aussi des bactériophages. Il nous a paru utile d'associer les bactériophages qui peuvent servir dans certaines situations (efficacité de filtration...).

4.1 Dénombrement des germes totaux par épifluorescence

La méthode par épifluorescence microscopique donne directement le nombre total de germes. Elle est relativement rapide (20 à 30 min par échantillon) et sensible. Elle ne permet pas la différenciation des bactéries selon des critères taxonomiques, d'activité métabolique ou de viabilité. Cette méthode ne peut pas être utilisée pour évaluer la biomasse bactérienne en raison de la grande variation du volume des cellules bactériennes.
La pratique de cette méthode nécessite un technicien expérimenté qui se basera sur la morphologie pour distinguer les germes des débris.

Principe

La méthode comprend une fixation permettant la conservation, une coloration avec un composé fluorescent, une filtration sous vide sur une membrane en polycarbonate non fluorescente et une numération avec un microscope à épifluorescence.

Matériel spécial

– Microscope avec éclairage UV vertical pour épifluorescence avec un objectif à immersion 100 x pour obtenir un grossissement final d'au moins 1 000 x.

– Mixer ou agitateur à vortex.

– Unité de filtration adaptée à l'utilisation de membranes filtrantes de 25 mm de diamètre.

– Membrane filtrante en polycarbonate de 25 mm de diamètre, d'une dimension de pores de 0,45 µm achetée noire (ou préparée par trempage de la membrane dans le noir Irgalan : 2 g/L dans une solution d'acide acétique à 2 %) puis rincée dans l'eau et séchée à l'air sec.

– Membrane cellulosique de 25 mm de diamètre, dimension de pores 5 mm.

– Seringues de 3 mL équipées de filtres de pores de 0,2 µm.

– Tubes en verre à bouchon fileté de 13 × 125 mm.

Réactifs

– Solution tampon phosphate *p*H 7,2 :

dihydrogénophosphate de potassium		13,6 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Ajuster le *p*H à 7,2 si nécessaire. Filtrer la solution à travers une membrane filtrante de 0,2 µm.

– Fixateur :

glutaraldéhyde		0,5 g
solution tampon	*q.s.p.*	100 mL

À préparer chaque jour.

– Solution fluorescente :

orangé d'acridine		0,1 g
solution tampon phosphate	*q.s.p.*	100 mL

– Solution Triton x – 100 (à 0,1 %) :

Triton *x* – 100		1 mL
saccharose (0,2 *M*)		68,42 g
EDTA solution à 0,1 %		1 mL
acide citrique (0,02 *M*)		3,84 g
dihydrogénophosphate de potassium (0,02 *M*)		2,72 g
eau déionisée stérile	*q.s.p.*	1 000 mL

Filtrer.

– Huile d'immersion faiblement fluorescente.

Mode opératoire

Prélever l'échantillon d'eau selon la méthodologie habituelle. Introduire 9 mL d'échantillon dans un tube contenant 1 mL de fixateur. Les échantillons fixés pourront être conservés à 4 °C pendant 3 semaines sans diminution significative du nombre de germes. Bien homogénéiser. Filtrer l'eau

traitée sur membrane noire, rincer 30 s avec agitation de va-et-vient dans 20 mL de solution tampon phosphate. Sécher les membranes dans un courant d'air chaud puis les immerger dans la solution de triton x – 100 à 0,1 % filtrée. Rincer avec la solution tampon phosphate puis immerger les membranes dans 20 mL de solution filtrée d'orangé d'acridine. Pratiquer un troisième rinçage dans la solution tampon phosphate, filtrer sous vide (environ 13 kPa). Rincer avec 2 mL de solution tampon et filtrer. Retirer le filtre en polycarbonate avec des pinces et sécher à l'air sec 1 ou 2 min. Couper le filtre en 4 morceaux et conserver si nécessaire. Monter le filtre sec dans une goutte d'huile à immersion sur une lame. Ajouter une goutte d'huile à immersion à la surface du filtre. Couvrir délicatement le filtre avec une lamelle. Les échantillons peuvent être conservés dans le noir plusieurs mois sans perte significative de la fluorescence.

Examiner au moins 20 champs du filtre avec l'objectif à immersion, grossissement 100 x pour vérifier que la distribution des bactéries est uniforme et que les germes peuvent bien être dénombrés individuellement (sinon, diluer l'échantillon et recommencer). Compter de préférence 10 à 50 germes par champ.

■ Expression des résultats

Calculer le nombre de germes moyens par filtre. Obtenir la surface réelle du filtre à partir des spécifications du fabricant.

Déterminer le nombre de germes par millilitres d'échantillon par extrapolation.

$$\begin{array}{c}\text{Nombre}\\ \text{de germes}\\ \text{totaux par mL}\end{array} = \left(\begin{array}{c}\text{Nombre moyen}\\ \text{de germes}\\ \text{par carré}\end{array}\right) \times \left(\frac{\begin{array}{c}\text{Nombre de carrés}\\ \text{du filtre}\end{array} \quad \begin{array}{c}\text{Facteur}\\ \text{de dilution}\end{array}}{\text{Volume d'échantillon (en mL)}}\right)$$

4.2 Dénombrement des bactéries aérobies revivifiables (germes aérobies mésophiles, hétérotrophes)

Cet examen vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre de micro-organismes, en particulier de bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles de culture. Quel que soit le milieu utilisé, le développement de l'ensemble des bactéries présentes n'est jamais obtenu : certaines espèces demandent des apports nutritifs et des conditions de milieu qui sont défavorables à la prolifération d'autres espèces. Cela veut dire que deux résultats ne sont comparables que s'ils proviennent d'analyses pratiquées selon la même méthodologie et avec les mêmes milieux de culture.

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles est utilisé comme indicateur de pollution :

– Soit dans les milieux naturels, le plus souvent dans les eaux de très bonne qualité microbiologique dont on veut éprouver la protection vis-à-vis

de toute contamination ; ce sont donc essentiellement les eaux souterraines, de nappes profondes ou alluviales, qui sont soumises à cet examen, mais aussi les eaux de surface comme celles de certains lacs loin des rives.

– Soit dans les réseaux : une augmentation de la concentration bactérienne en aval de la station de pompage ou de traitement doit être interprétée soit comme une multiplication interne de bactéries existant à l'entrée du réseau, soit comme une intrusion de l'extérieur dans celui-ci, au niveau des réservoirs ou des canalisations.

Le même dénombrement est également utilisé comme indicateur d'efficacité de traitement, en particulier des traitements physiques tels que la filtration, qui devrait entraîner soit une très forte diminution de la concentration bactérienne par rapport à l'entrée, soit même une absence de bactéries.

Ce dénombrement peut donner en outre des indications importantes pour juger la validité de techniques utilisées pour la recherche d'autres paramètres : un nombre très élevé de germes par rapport à un nombre très faible de coliformes rend le dénombrement de ces derniers très incertain par leur comptage sur membrane filtrante.

Les dénombrements sont effectués après incubation soit à 36 °C, en 48 heures, soit à 22 °C en 72 heures. Traditionnellement, le dénombrement à 37 °C est estimé plus péjoratif du point de vue signification sanitaire que celui à 20 °C ; cette distinction est assez fréquemment contreversée actuellement. Cependant pour effectuer un inventaire global de la population bactérienne dans les milieux naturels, l'incubation à 20 °C devrait être préférée.

Il est usuel d'exprimer les résultats de dénombrements bactériens en nombre de bactéries (ou plus généralement de micro-organismes) par mL se développant dans les conditions expérimentales choisies (*).

4.2.1 Méthode par incorporation en milieu gélosé

■ Principe

L'eau est inoculée par incorporation dans un milieu strictement défini et non sélectif. La lecture est faite après 48 heures d'incubation à 36 °C ou après 72 heures d'incubation à 22 °C. Cette méthode fait cependant subir un choc thermique aux micro-organismes au moment de l'incorporation de la gélose en surfusion (à 45 °C).

■ Domaine d'application

Cette méthode est la plus employée pour les analyses à but sanitaire. Avec le mode opératoire type, elle donne des résultats de précision correcte pour les échantillons contenant plus de 30 germes par mL. Cette méthode est donc utilisable pour l'application de la réglementation concernant les eaux d'alimentation délivrées sous forme conditionnée.

(*) De plus en plus actuellement, on remplace cette expression « nombre de germes » par celle de « nombre d'unités formant colonie » (en abréviation UFC). Cette dernière expression tient compte du fait qu'une seule colonie visible, et comptée, peut provenir en réalité d'un germe ou de plusieurs germes agglutinés.

☐ **Diluants**

Utiliser pour les dilutions éventuelles l'un des diluants suivants :

– Solution de Ringer diluée au 1/4.

Préparer la solution suivante :

chlorure de sodium		9 mL
chlorure de potassium		0,42 g
chlorure de calcium		0,48 g
hydrogénocarbonate de sodium		0,2 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Diluer au quart cette solution à l'aide d'eau permutée. Répartir en flacons. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 ± 1 °C.

– Eau permutée stérile.

☐ **Milieux de culture**

– Gélose à l'extrait de levure :

tryptone		6 g
extrait de levure déshydraté		3 g
agar		15 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre dans l'eau à l'ébullition, les composants. Si nécessaire, ajuster le *p*H de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,0 ± 0,2 à 20 °C (mesure effectuée à 44 °C ± 2 °C avec correction de température). Répartir le milieu en tubes (par exemple de 18 × 180 mm) à raison de 15 mL par tube. Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 minutes. Le développement des diverses espèces bactériennes dépendant de la composition du milieu, il est indispensable, afin que les résultats soient reproductibles, que celle-ci soit constante et que le taux d'humidité du milieu soit également constant. Ce milieu doit donc être conservé dans des flacons ou tubes fermés d'une façon étanche, pour éviter toute évaporation, et ne pas être préparé depuis plus d'un mois au moment de l'emploi.

– *Plate count agar* (gélose pour dénombrement) *:*

tryptone		5 g
extrait de levure		2,5 g
glucose		1 g
agar		15 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Préparer ce milieu comme le milieu précédent. Assurer sa conservation de la même façon.

Ce milieu existe commercialement sous forme déshydratée.

■ Mode opératoire

Préparation des dilutions et répartition pour l'ensemencement

Pour les eaux embouteillées, ensemencer en duplicata (deux boîtes de Pétri).

Lorsque seuls des ensemencements avec 1 mL d'eau non diluée sont à pratiquer, agiter soigneusement et de façon prolongée l'échantillon pour remettre en suspension d'une façon homogène les bactéries. Prélever ensuite stérilement 1 mL de cette eau ; le déposer dans une boîte de Pétri stérile de 90 mm de diamètre.

Si la lecture doit porter sur de l'eau diluée, introduire dans une série de tubes stériles correspondant au nombre de dilutions à utiliser, 9 mL d'eau stérile ou de solution de Ringer diluée au 1/4. Prélever ensuite 3 fois 1 mL d'échantillon soigneusement agité, et déposer deux des prélèvements dans une boîte de Pétri stérile, et le troisième dans le premier des tubes contenant 9 mL.

Agiter soigneusement le tube de dilution au 1/10 ainsi préparé à l'aide d'un agitateur mécanique. Prélever à l'aide d'une nouvelle pipette stérile 3 fois 1 mL, et les déposer, d'une part dans le deuxième tube (réalisant ainsi la dilution au 1/100), d'autre part dans deux autres boîtes de Pétri. Continuer ainsi jusqu'à ce que toutes les dilutions nécessaires aient été effectuées.

Incorporation à la gélose, incubation

Porter au bain-marie bouillant les tubes contenant la gélose jusqu'à fusion du milieu. Refroidir à 44 °C ± 2 °C et maintenir au bain-marie à cette température. Couler aseptiquement dans chaque boîte le contenu d'un tube de gélose fondue, maintenue à 44 °C ± 2 °C ; agiter doucement par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans faire de bulles et sans mouiller les bords de la boîte. Le milieu doit être coulé 10 minutes au plus tard après répartition de l'eau à analyser. Laisser refroidir sur une surface parfaitement horizontale et fraîche.

La moitié des boîtes ensemencées avec chacune des différentes dilutions d'eau est incubée, aussitôt après solidification, dans une étuve à 36 °C ± 2 °C durant 44 (± 4) heures. L'autre est placée dans une enceinte maintenue à une température de 22 °C ± 2 °C durant 68 (± 4) heures. Conserver les boîtes à l'obscurité, couvercle en dessous.

Lecture

Examiner les boîtes dès que possible après la période d'incubation, sinon les conserver à 5 °C ± 3 °C pendant 48 heures au maximum. Compter les colonies, en s'aidant au besoin d'une loupe de grossissement 1,5 ou d'une loupe binoculaire.

■ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en nombre de micro-organismes revivifiables par mL, dans les conditions de l'essai, chaque colonie étant par convention considérée comme ayant été engendrée par un seul micro-organisme. Exprimer les résultats en UFC. Pour les eaux embouteillées, les résultats sont calculés par la moyenne des deux boîtes de la même série de dilution (incubées soit à 36 °C, soit à 22°C).

> **Remarque**
>
> Le terme « tryptone » n'étant actuellement utilisé que par certains producteurs de milieux, tout autre digestat de caséine donnant des résultats comparables peut être utilisé.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN ISO 6222 (juillet 1999). Qualité de l'eau – Dénombrement des micro-organismes revivifiables – Comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélosé.

4.2.2 Méthode par ensemencement en surface sur milieu gélosé

■ Principe

la prise d'essai est déposée à la surface d'une boîte de gélose, où elle est soigneusement répartie à l'aide d'un étaleur. Elle est ensuite incubée dans les mêmes conditions que dans la méthode par incorporation.

■ Domaine d'application

Cette méthode est plus spécialement adaptée aux eaux contenant des germes susceptibles d'être sensibles au choc thermique, par exemple les eaux de surface (lacs de régions froides) ; elle est également intéressante pour procéder à l'identification des colonies. Toutefois, elle n'est valablement applicable qu'aux eaux dont la concentration est supérieure à 200 ou 300 (à la rigueur 100) germes par mL.

□ Milieux de culture

Utiliser les mêmes milieux que ceux proposés pour la méthode de dénombrement par incorporation (E.4.2.1 : gélose à l'extrait de levure, *Plate count agar*), et si besoin les mêmes liquides de dilution.

■ Mode opératoire

Les boîtes de gélose doivent être préparées (coulées, solidifiées, refroidies, convenablement séchées) avant le début des manipulations. Agiter très soigneusement l'échantillon à analyser. Prélever une prise d'essai de 0,1 mL avec une pipette graduée et la disposer à la surface du milieu à l'aide d'un étaleur stérile. Répartir uniformément la goutte sur toute la surface de la boîte. Ensemencer de cette façon pour chaque température d'incubation une boîte, ou de préférence plusieurs, pour obtenir une plus grande précision dans le résultat. Si l'eau est soupçonnée contenir plus de 3 000 germes par mL, pratiquer des dilutions selon les indications données pour la méthode par incorporation en gélose, et les ensemencer selon ces mêmes indications en remplaçant le volume indiqué de 1 mL, par celui de 0,1 mL. Incuber de la même manière, à 37 °C et 20 °C et procéder à la lecture du nombre de colonies développées sur chaque boîte.

■ Expression des résultats

Le nombre de colonies compté sur une boîte, multiplié par 10 et éventuellement par l'inverse du rapport de dilution, indique le nombre de bactéries aérobies mésophiles contenues dans 1 mL d'échantillon et revivifiables dans les conditions d'expérience. Les résultats sont exprimés sous cette forme : nombre de germes par mL, en précisant la température et la durée d'incubation, ainsi que le milieu utilisé et la méthode suivie.

4.3 Dénombrement des coliformes

4.3.1 Classification des coliformes. Intérêt et modalités de leur recherche

■ Définition des coliformes

Le terme de « coliformes » ne correspond pas à une définition microbiologique stricte. Sous ce terme est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae* et qui partagent certaines caractéristiques biochimiques.

La définition suivante a été adoptée par l'Organisation internationale de standardisation (ISO). *Le terme « coliforme »* correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C.

Le dénombrement de ces organismes à 35-37 °C est souvent désigné sous l'expression de « dénombrement des coliformes totaux ». Ainsi, les coliformes constituent-ils un rassemblement assez hétéroclite du point de vue taxonomique. Mais leur étude est traditionnelle et les renseignements donnés par cet examen sont d'une certaine utilité dans le domaine de la santé publique.

Les coliformes comprennent entre autres les genres : *Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Yersinia, Serratia.*

À la définition précédente des coliformes, il convient d'ajouter les trois définitions suivantes :

– *Le terme de « coliformes fécaux » ou de « coliformes thermo-tolérants »* correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44 °C. Le groupe des coliformes fécaux comprend entre autres les espèces suivantes : *Citrobacter freundii, Citrobacter diversus, Citrobacter amalonaticus, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Moellerella wisconsensis, Salmonella, Yersinia enterocolitica.*

– *Le terme « E. coli présumé »* correspond à des coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à partir de tryptophane, à 44 °C.

– *Le terme « E. coli »* correspond à des coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane et ont les caractères biochimiques propres à cette espèce.

Aujourd'hui la réglementation parle de recherche de coliformes totaux. On ne distingue pas les coliformes d'origine fécale des autres origines (telluriques, cliniques, etc.) et de *E. coli* (coliformes d'origine fécale).

■ Intérêt hygiénique de la recherche des coliformes dans une eau

Les coliformes sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance. Par ailleurs, leur résistance aux agents antiseptiques, et notamment au

chlore et à ses dérivés, est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré ; ils constituent donc des indicateurs d'efficacité de traitement.

Examens bactériologiques usuels se rapportant aux coliformes

Au total, trois types d'examens colimétriques peuvent être distingués :

– *La recherche et le dénombrement de l'ensemble des coliformes,* sans préjuger de leur appartenance taxonomique et de leur origine.

Cet examen, capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement désinfectant, est d'un intérêt plus nuancé pour déceler une contamination d'origine fécale.

– *La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux*, examen sans base taxonomique, mais proposé en raison d'une concordance statistique entre leur présence et l'existence d'une contamination fécale quasi certaine.

– *La recherche et le dénombrement des seuls Escherichia coli.*

Ces deux derniers examens sont, au contraire, essentiels dans le diagnostic d'une contamination fécale.

Les analyses, les plus fréquemment pratiquées, répondent de fait aux exigences réglementaires concernant la surveillance courante de la qualité microbiologique des eaux. Il y a peu de différence, du point de vue pratique, entre les indications fournies par les dénombrements de coliformes fécaux et de *Escherichia coli* présumés. L'examen est souvent orienté vers l'un ou l'autre de ces dénombrements plutôt pour des raisons de techniques de laboratoire que pour des impératifs hygiéniques.

Les méthodes décrites ci-après conduisent à mettre en évidence ou à dénombrer des groupes de bactéries définies d'une façon empirique par certains de leurs caractères biologiques ou culturaux. Dans certains cas, il peut être nécessaire de confirmer l'identification et de déterminer la position taxonomique des espèces formant les colonies.

Il conviendra alors, soit à partir d'une colonie parfaitement isolée sur gélose sélective, soit après réisolement du germe par isolement en stries sur milieu gélosé ordinaire, de pratiquer une coloration de gram (bacilles à Gram négatif), une oxydase (négative), l'ensemencement d'une galerie d'identification biochimique miniaturisée à 20 caractères ou 32, voir une identification moléculaire.

L'apparition dans une eau de bonne qualité habituelle de coliformes non thermotolérants peut inciter à une identification de ces coliformes, l'espèce pouvant parfois donner des renseignements sur l'origine des bactéries (*Raoultella* est plus souvent d'origine environnementale que *Klebsiella* par exemple). Il ne paraît pas nécessaire de recommander, en l'absence de coliformes thermotolérants, d'identifier les coliformes non thermotolérants présents dans une eau.

Enfin, le dénombrement direct des *Escherichia coli* dans l'échantillon peut être utile ; il pourra être effectué selon la méthode par ensemencement en milieu liquide (NPP) en microplaques.

4.3.2 Méthode de dénombrement par filtration sur membrane

■ Principe

Après filtration de l'eau à étudier, la membrane est déposée sur un milieu gélosé approprié. Ceci permet aux colonies de coliformes de se développer préférentiellement au cours d'une incubation de 18 à 24 heures, et sous un aspect suffisamment caractéristique pour autoriser un diagnostic présomptif. Celui-ci peut d'ailleurs être confirmé par des repiquages judicieux.

■ Domaine d'application

Son domaine d'application privilégiée est les eaux claires ne contenant pas de matières en suspension susceptibles de colmater : eaux d'alimentation, de surface et de baignade claires.

☐ Milieux de culture

Géloses lactosées

– Géloses lactosées au TTC et Tergitol (milieu de Chapmann, modifié par R. Buttiaux).

Solution A :

Dans 1 litre d'eau déionisée, dissoudre par chauffage :

extrait de viande	5 g
peptone	10 g
extrait de levure	6 g
lactose	20 g
bleu de bromothymol	0,05 g
agar	20 g

Ajuster le *p*H à 7,2. répartir (100 mL) dans des flacons de 150 mL. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 120 °C.

Solution B :

Dissoudre 0,05 g de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium (TTC) dans 100 mL d'eau déionisée. Filtrer ou stériliser 20 minutes à l'autoclave à 120 °C.

Solution C :

Dissoudre 0,20 g de Tergitol 7 dans 100 mL d'eau déionisée.

Au moment de l'emploi, faire fondre la solution *A* (base gélosée) et maintenir à 45-50 °C. Ajouter 5 mL de solution *B* et 5 mL de solution *C*. Bien mélanger en évitant les bulles. Couler en boîtes de Pétri stériles de 60 mm. L'épaisseur du milieu doit être de 5 mm. Laisser solidifier. Ce milieu se conserve 10 jours à 4 °C.

La base gélosée existe commercialement sous forme déshydratée ou prête à l'emploi, les solutions B et C étant présentées en ampoules. Il existe également des tampons absorbants imprégnés de ce milieu (« milieu de culture sur carton Tergitol TTC »).

– Gélose lactosée au lauryl sulfate de sodium :

peptone		40 g
extrait de levure		6 g
lactose		30 g
rouge de phénol en solution aq. 0,4 %		50 mL
lauryl sulfate de sodium pur		1 g
agar		15 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre par chauffage les ingrédients. Ajuster le *p*H de telle sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,4 à 7,5. Répartir en flacons de volume adapté à l'utilisation, par exemple de 100 mL. Autoclaver 15 minutes à 121 °C.

Pour l'utilisation faire fondre le milieu et le couler en boîte de Pétri de 60 mm de diamètre. La base de ce milieu existe déshydratée.

Milieux de confirmation

– Bouillon lactosé bilié au vert brillant.

Dissoudre dans de l'eau déionisée 10 g de peptone et 10 g de lactose. Dissoudre séparément 20 g de bile déshydratée dans 200 mL d'eau permutée et ajuster le *p*H de cette solution entre 7 et 7,5. Mélanger les deux solutions et compléter à 975 mL avec de l'eau déionisée. Ajuster à *p*H 7,4. Ajouter 13,3 mL de solution de vert brillant à 0,1 % dans l'eau déionisée. Filtrer sur coton. Répartir (10 mL) dans des tubes de 160 × 16 mm avec cloches de Durham. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 125 °C.

Ce milieu existe commercialement sous forme déshydratée ou prêt à l'emploi.

– Eau peptonée.

Dissoudre 10 g de peptone et 5 g de chlorure de sodium dans 1 litre d'eau déionisée. Amener le *p*H à 7,2. répartir (5 mL) dans des tubes de 160 × 16 mm. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 120 °C.

Ce milieu ne doit pas contenir d'indole. S'en assurer par incubation d'un échantillon non ensemencé. La réaction doit être négative. Elle doit être au contraire positive (présence de tryptophane, nécessaire à la production d'indol) après inoculation avec une souche indologène d'*Escherichia coli.*

Ce milieu existe commercialement prêt à l'emploi ou déshydraté. Certaines préparations précisent : « eau peptonée exempte d'indol ».

– Milieu de Schubert modifié par Fennel.

Dissoudre dans 500 mL d'eau déionisée 0,2 g de tryptophane ; 0,2 g d'acide glutamique, 0,7 g de sulfate de magnésium ; 0,4 g de sulfate d'ammonium ; 0,5 g de citrate de sodium ; 2 g de chlorure de sodium ; 10 g de tryptone (Oxoïd ou marque équivalente) ; 7,5 g de mannitol.

D'autre part, ajouter à 435 mL d'une solution 1/15 *M* de monohydrogénophosphate de potassium anhydre (soit à 9,47 g/L) et 65 mL d'une solution 1/15 *M* de dihydrogénophosphate de potassium (soit à 9,073 g/L). S'assurer que le *p*H est bien à 7,6.

Mélanger les deux solutions précédentes. Répartir en tubes avec cloches de Durham à raison de 5 mL par tube. Stériliser à l'autoclave 10 minutes à 115 °C.

Avant la répartition en tubes, il est possible d'ajouter au litre de milieu préparé, 10 mL d'une solution de ricinoléate de sodium à 10 %.

– Bouillon au Lauryl Tryptose Mannitol (LTM) :

tryptose		20 g
mannitol		5 g
monohydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4)		2,75 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		2,75 g
chlorure de sodium (NaCl)		5 g
lauryl sulfate de sodium		0,1 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Le *p*H du milieu après stérilisation doit être de 6,8 environ.

Répartir en tubes avec cloches de Durham à raison de 10 mL de milieu par tube. Stériliser à l'autoclave 10 minutes à 115 °C.

Réactifs

– Réactifs d'Erlich-Kovacs pour recherche de l'indol.

Dissoudre 7 g de *p*-diméthyl aminobenzaldéhyde dans 75 mL d'alcool amylique en chauffant doucement au bain d'eau à environ 50 à 55 °C. Refroidir. Ajouter 20 mL d'acide chlorhydrique. Conserver à l'abri de la lumière et à 4 °C environ.

S'utilise en ajoutant 0,5 mL environ à un tube à essai de milieu liquide où est supposé s'être formé de l'indol. Une coloration rouge se développe dans la phase alcoolique lorsque la réaction est positive.

– Alcool isoamylique et acide nitrique pour recherche de l'indol.

Une coloration rouge peut être également obtenue en ajoutant au milieu de culture 1 mL d'alcool amylique et 5 gouttes d'acide NO_3H additionné de quelques cristaux de nitrite de sodium.

– Réactif pour mettre en évidence l'oxydase.

Solution à 1 % de chlorhydrate de tétraméthylparaphénylènediamine à préparer extemporanément.

Dans le commerce, il existe des disques et bandelettes imprégnés de cette solution. Au moment de l'emploi, les réhydrater avec un peu d'eau déionisée stérile.

Choix des prises d'essai

La plupart des réglementations et notamment les directives du Conseil des communautés européennes concernant les eaux destinées à l'alimentation humaine exigent l'absence de coliformes ou de coliformes fécaux dans 100 mL. Pour ce type d'eau, ce sera donc la prise d'essai usuelle. Pour des eaux polluées, il faut souvent procéder à des dilutions, afin de ne pas obtenir de développements de plus de 100 colonies sur la membrane.

Mode opératoire

Première étape : dénombrement direct sur la membrane

Elle conduit à un dénombrement présomptif des coliformes et des coliformes fécaux.

Filtrer sur deux membranes différentes, dans les conditions précisées antérieurement, deux prises d'essai de l'eau à analyser soigneusement homogénéisée par agitation. Les prises d'essai ne devant pas être inférieures à 20 mL, diluer si nécessaire. Placer chacune des deux membranes sur une boîte de gélose lactosée au TTC et Tergitol. Mettre ces boîtes à incuber durant 24 heures l'une à 37 °C, l'autre à 44 (± 0,5 °C). Très important : l'enceinte à 44 °C doit avoir une température homogène et son atmosphère être chargée de vapeur d'eau. Placer au fond de l'étuve une cuve large, remplie d'eau en permanence.

La norme demande un complément d'incubation de 24 heures aux deux températures. Ce temps d'incubation est nécessaire vis-à-vis des germes stressés comme c'est le cas des germes en présence de chlore dans le réseau de distribution.

La lecture des boîtes permet de reconnaître la présence de coliformes par les caractéristiques suivantes :

– coloration jaune, orange des colonies, résultant de l'absence de réduction du TTC par les coliformes ; en général, les *Escherichia coli* provoquent

une coloration nettement orangée ; les *Klebsiella* une coloration jaune paille ;

– halo jaune, dans le milieu lui-même, sous la membrane, autour des colonies précédentes, correspondant à une fermentation du lactose par ces colonies.

La flore bactérienne associée est généralement beaucoup moins abondante dans la boîte incubée à 44 °C.

Deuxième étape : examen et repiquage des colonies sur des milieux de confirmation

En certaines circonstances, il est possible de se contenter de compter les colonies correspondant, d'après leurs aspects, aux coliformes ; il est toutefois recommandé de pratiquer des tests simples confirmatifs.

Cette étape est nécessaire pour les eaux d'alimentation ou lorsque le nombre de colonies « douteuses » est tel qu'une limite de tolérance administrative pourrait être franchie.

Cette étape comporte à partir d'une colonie isolée :

1. Coloration par la méthode de Gram et examen microscopique des bacilles à Gram négatif.

2. Recherche de l'oxydase négative :

Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur un peu d'une colonie choisie et l'étaler sur un papier filtre imprégné de quelques gouttes de solution à 1 % de chlorhydrate de tétraméthylparaphénylènediamine préparée extemporanément. En présence d'oxydase, une coloration violet-brun apparaît immédiatement. Une réaction tardive est sans valeur. Des papiers réactifs commercialisés peuvent être utilisés.

Une réaction à l'oxydase positive exclut le diagnostic de coliformes.

3. Impérativement repiquage sur les milieux confirmatifs liquides :

a) Bouillon lactosé bilié au vert brillant à cloche, incubé à 37 °C ; l'existence d'un virage au jaune et de gaz dans la cloche correspond à une réaction positive pour la présence de coliformes.

b) Même milieu, incubé à 44 °C ; une réaction positive correspond à la présence de coliformes fécaux.

c) Milieu de Schubert ou milieu lauryl tryptose mannitol à 44 °C ; au contraire du bouillon lactosé bilié au vert brillant, ces milieux contiennent comme sucre non pas du lactose mais du mannitol : de nombreux essais ont montré la concordance des résultats. L'existence de pousse bactérienne, de gaz dans la cloche (fermentation du mannitol avec gaz) et une coloration rouge après addition de réactif de Kovacs (caractère indologène), correspondent à une réaction positive pour la présence d'*Escherichia coli* présumés.

Il est possible d'obtenir la même indication en utilisant un tube d'eau peptonée, incubé à 44 °C, et un tube de bouillon lactosé au vert brillant à 44 °C. L'existence d'une pousse bactérienne dans les deux tubes avec apparition de coloration rouge après addition de réactif de Kovacs dans le premier, et un dégagement de gaz dans le deuxième (réaction de Mac Kenzie) correspondent à la présence d'*Escherichia coli* présumés.

Il faut procéder à cette 2e étape dans les cas suivants :

– Lorsque l'eau ne doit pas contenir de coliformes quels qu'ils soient, fécaux ou non, repiquer quelques colonies isolées sur la membrane incubée à 44 °C, ou à défaut sur la membrane incubée à 37 °C, selon les indications 1, 2 et 3 a ci-dessus.

Du fait des aléas de la répartition (distributions poissoniennes des micro-organismes en suspension), il peut arriver qu'il n'y ait pas de colonies à 37 °C et quelques-unes à 44 °C.

– Lorsque l'eau ne doit pas contenir de coliformes fécaux et que :

- est relevée la présence de colonies à 44 °C : repiquer selon les modalités 3*b* ou 3*c* et éventuellement 1 et 2, qui, en pratique, seront toujours positives ;
- est notée la présence de colonies à 37 °C et l'absence de colonies à 44 °C : il faut s'assurer que parmi les « coliformes », il n'y a pas de « coliformes fécaux » (aléas de la répartition). Repiquer les colonies et procéder aux manipulations b et c, mais aussi 2 voire 1.

– Lorsque l'eau ne doit contenir qu'un nombre de coliformes ou de coliformes fécaux inférieurs à une limite ou concentration déterminée par les autorités sanitaires : on peut aussi effectuer les confirmations par 2 et 3*a* pour les coliformes, par 2 et surtout 3*b* ou 3*c* pour les coliformes fécaux, de la nature soit de toutes les colonies, soit, si leur nombre est trop grand, d'un nombre correspondant à la racine carrée du nombre de colonies de chaque type d'aspect. Calculer le résultat en totalisant les carrés des nombres de confirmations positives dans chaque type.

Remarques

– Ces examens de confirmation ne peuvent être pratiqués que sur des souches pures. S'assurer à la loupe de l'homogénéité des colonies avant de procéder à ces essais. En cas de doute, réisoler les colonies sur un milieu gélosé ordinaire à 37 °C.

– Dans certaines eaux, le plus souvent des eaux traitées, et sur les membranes incubées à 44 °C, des colonies oranges, mais très chétives sont parfois observées (bactéries « stressées »). Souvent, elles ne se développent pas sur un milieu sélectif, toujours plus ou moins inhibiteur, surtout lorsqu'il est de plus incubé à 44 °C. Pour les identifier, il est préférable de les réinoculer sur un milieu nutritif, non inhibiteur, à 30 ou 37 °C ; ce n'est qu'à partir de cette culture que les essais de confirmation peuvent être effectués.

– *Autres milieux*

- Gélose lactosée au lauryl sulfate de sodium à 1 %.

Procéder comme dans la technique précédente, mais en déposant la membrane sur une gélose lactosée au lauryl sulfate, au lieu de la gélose lactosée au TTC et au Tergitol. Les colonies fermentant le lactose apparaissent colorées en jaune. Une auréole jaune se détache nettement, lorsqu'il y a peu de colonies, sur le fond rouge du milieu, en dessous de la membrane.

Ce milieu est plus inhibiteur que le milieu au TTC Tergitol vis-à-vis des espèces autres que les coliformes. Son emploi est donc particulièrement intéressant pour les eaux de surface où la présence de ces bactéries d'accompagnement est toujours gênante pour la lecture du milieu au TTC Tergitol.

• D'autres milieux sont très fréquemment employés aux États-Unis, mais aussi dans quelques pays européens, notamment le milieu « d'Endo », à la fushine sulfitée, utilisé pour la recherche des coliformes et coliformes fécaux, et le milieu « mFC Medium », à l'acide rosolique, recommandé pour les coliformes fécaux. Le premier est extrêmement sélectif et ne laisse guère croître que les colonies coliformes. L'un et l'autre cependant présentent quelques difficultés dans leur utilisation et surtout dans leur conservation. Au contraire, les deux milieux décrits dans cet ouvrage, sans précautions particulières d'emploi et de conservation, donnent des résultats extrêmement constants.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN ISO 9308-1 (septembre 2000). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes – Partie 1 : méthode générale par filtration sur membranes.

4.3.3 Méthode de détermination du nombre le plus probable (NPP) par inoculation de tubes en milieux liquides (ou fermentation en tubes multiples)

■ Principe

Après ensemencement de plusieurs dilutions de l'échantillon, chacune dans une série de tubes contenant un milieu de culture non véritablement sélectif mais permettant de mettre en évidence la fermentation du lactose avec production de gaz, repiquer les tubes « positifs » sur un milieu liquide contenant des sels biliaires ou des agents de surface, incubés soit à 36 °C soit à 44 °C pour les dénombrements de coliformes ou de coliformes fécaux respectivement et en outre sur un milieu contenant du tryptophane pour mettre en évidence la production d'indol à partir du tryptophane à 44 °C par les *Escherichia coli* présumés.

La détermination du nombre caractéristique (nombre de tubes positifs pour chaque dilution) permettra l'établissement du nombre le plus probable de coliformes par le calcul ou la consultation des tables du paragraphe B-3.3.2.

■ Domaine d'application

Cette méthode, de mise en œuvre lourde, est surtout intéressante pour les eaux dont la teneur en matières non solubles fait obstacle à l'utilisation de la filtration sur membrane. Elle est très facilement adaptable aux divers buts visés par les analyses, par la variété de choix possibles dans les prises d'essai. Elle peut être très sensible et explorer une très large échelle de concentration des coliformes. Mais elle est onéreuse et surtout ne permet d'obtenir des résultats qu'avec des intervalles de confiance très larges, souvent inacceptables.

□ Milieux de culture et réactifs

Milieux d'inoculation

– Bouillon lactosé.

Formule concentrée :

extrait de viande de bœuf	6 g

peptone		10 g
lactose		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre par chauffage. Ajuster le *p*H à 6,7. Répartir dans des tubes de 300 × 30 mm (50 mL) ou de 220 × 22 mm (10 mL) avec cloches de Durham. Au moment de l'emploi, ajouter à chaque tube un volume d'eau à analyser égal au volume du milieu concentré obtenu.

Formule normale :

extrait de viande de bœuf		3 g
peptone		5 g
lactose		5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre par chauffage. Ajuster le *p*H à 6,7. Répartir (10 mL) en tubes avec cloches de Durham de 200 × 20 mm. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 120 °C.

Milieux de confirmation

Se reporter à la méthode de dénombrement par filtration sur membrane (E.4.3.2).

■ Choix du système d'ensemencement et des prises d'essai

Cette méthode lourde est applicable en cas de colmatage prévisible lors de l'application de la filtration sur membrane : eau de rivière ou usée de qualité médiocre ou mauvaise, eau de mer et toutes eaux chargées de matières en suspension. Inoculer cinq tubes avec 1 mL d'eau non diluée, ce qui évite d'utiliser des milieux d'inoculation concentrés. Cette première série suivie de trois autres séries de dilution de 10 en 10, permet d'apprécier une concentration s'étendant de 30 à 50 000 coliformes pour 100 mL. Au besoin, l'inoculation d'une cinquième, voir d'une sixième série, permettrait d'étudier des eaux encore plus polluées.

■ Mode opératoire

Première étape : inoculation

Inoculer un des deux milieux d'inoculation. En France, le bouillon lactosé est de beaucoup le plus utilisé.

Après inoculation, agiter pour homogénéiser sans faire pénétrer d'air dans la cloche de Durham, et placer les tubes dans une étuve à 36 °C pendant 24 heures. Procéder à une première lecture après cette incubation.

Considérer comme « positifs » les tubes où il se produit simultanément un trouble dans toute la masse liquide et un dégagement de gaz dans la cloche.

Repiquer chaque tube positif dans le (ou les) milieu de confirmation. Incuber à nouveau les tubes « négatifs » durant 24 heures. Lire à nouveau et procéder au repiquage des tubes devenus « positifs ».

Deuxième étape : repiquage sur milieu de confirmation

Deux systèmes sont généralement utilisés :

– Utilisation de bouillon lactosé bilié au vert brillant et de l'eau peptonée.

Chacun des milieux « positifs » de la première étape est repiqué avec une anse bouclée ou une pipette Pasteur, dans un tube de bouillon lactosé bilié

au vert brillant pour incubation à 36 °C ± 2 °C, en vue du dénombrement de ce coliforme, et éventuellement un second tube de ce milieu ainsi qu'un tube d'eau peptonée, pour incubation à 44 °C, si l'on veut dénombrer les coliformes fécaux et les *E. coli* présumés. Après une incubation appropriée, procéder à la 24e heure, puis à la 48e heure, à la lecture des tubes positifs permettant de calculer le NPP (E.3.3). Sont considérés comme positifs : les tubes au vert brillant où se manifestent une croissance bactérienne et un dégagement de gaz dans la cloche de Durham ; les tubes d'eau peptonée où l'addition de 1 mL de réactif de Kovacs donne naissance à une coloration rouge.

Les NPP sont calculés :

- pour les coliformes, dits coliformes totaux, sur les tubes de bouillon lactosé bilié au vert brillant, incubés à 37 °C.
- pour les coliformes fécaux sur les tubes de milieux lactosés biliés au vert brillant incubés à 44 °C.
- pour les *Escherichia coli* présumés, sur les tubes de milieu présomptif dont les repiquages sur milieu lactosé bilié au vert brillant et sur eau peptonée, incubés l'un et l'autre à 44 °C, sont simultanément positifs.

– Utilisation d'un seul tube confirmatif (Dénombrement des *E. coli* présumés)

Le repiquage des tubes d'inoculation positifs est effectué sur un tube de milieu de Schubert, modifié par Fennel, ou de bouillon au LTM.

Dès leurs ensemencements, les tubes sont mis au bain d'eau à 44 °C durant 24 heures. Sont considérés comme positifs et pris en compte pour l'évaluation du NPP d'*E. coli* présumés, les tubes où une pousse bactérienne est observée, avec dégagement de gaz dans la cloche de Durham et où la coloration rouge résultant de l'addition du réactif de Kovacs témoigne de la production d'indol.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés sous la forme : nombre le plus probable de coliformes, coliformes fécaux, *E. coli* présumés par 100 mL.

> **Remarque**
>
> Il est possible de combiner les deux modalités en ensemençant un tube de bouillon lactosé bilié au vert brillant, incubé à 37 °C pendant 48 heures et un tube d'un milieu au mannitol incubé à 44 °C durant 24 heures, permettant d'obtenir ainsi simultanément les NPP de coliformes et d'*E. coli* présumés.

Méthode de référence

NF EN ISO 9308-3 (mars 1999). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux de surface et résiduaires – Partie 3 : méthode miniaturisée (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide.

4.3.4 Dénombrement des *Escherichia coli* par ensemencement en milieu liquide (NPP) en microplaques

■ Principe

La prise d'essai d'eau à analyser est diluée (2 à 6 dilutions selon le degré de pollution de l'eau en micro-organismes) dans un total de 96 puits d'une microplaque contenant le milieu de culture déshydraté. La lecture est faite après au minimum 36 heures d'incubation à 44 °C ± 0,5 °C par examen des plaques sous rayonnement UV à 366 nm à l'obscurité et notation du nombre de puits où la réaction est positive. Il s'agit de la dégradation du MUG (substrat fluorogène : 4-méthylumbelliferyl-β-D-glucuronide) avec libération de composés fluorescents par une β-glucuronidase présente chez 85-95 % des *E. coli*, mais aussi 50 % des *Shigella* et 30 % des *Salmonella*, par ailleurs rares dans les eaux.

■ Domaine d'application

Cette méthode de numération-identification en un temps des *E. coli* par ensemencement en milieu liquide de dilutions successives pour détermination du NPP est applicable aux eaux de surface, de baignade et résiduaires, en particulier à celles chargées en matières en suspension, à l'exclusion des eaux de boisson par insuffisance de l'inoculum.

□ Matériel spécial

– Microplaques 96 puits de 350 µL, à fond plat, stériles (commercialisées prêtes à l'emploi avec milieu déshydraté).

– Adhésifs stériles à usage unique, pour microplaques.

– Multipipette à 8 canaux, réglable ou préréglée pour mesurer et distribuer 200 µL par canal.

– Cônes stériles pour multipipette.

– Système de filtration à 0,22 µm.

– Chambre d'observation UV (366 nm) ou spectrophotomètre à microplaques.

□ Diluant et milieux de culture

– Diluant DSM :

sel marin synthétique (*)	22,5 g
eau déionisée	1 000 mL

Stériliser la solution à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 min.

– Eau déionisée stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 20 min.

– Milieu de culture :

tryptone Difco	40 g
salicine	1 g
Triton X 100	1 g
eau déionisée	1 000 mL
MUG	100 mg
N, N-diméthylformamide	2 mL

Dissoudre dans un litre d'eau déionisée : tryptone, salicine et Triton en maintenant un chauffage doux et une agitation magnétique puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution

(*) Pour aquariums (par exemple, « Instant Ocean »).

complète. Après refroidissement, ajouter MUG dissous au préalable dans 2 mL de N, N-diméthylformamide. Ajuster le *p*H à 6,9 ± 0,1. Stériliser la solution par filtration à 0,22 µm.

– Préparation des microplaques.

Répartir dans chaque puits de microplaques 100 µL du milieu de culture. Sécher immédiatement sous tunnel ou hotte à flux laminaire.

Mode opératoire

Choix des dilutions

Le nombre de dilutions à ensemencer est adapté à l'origine et à la qualité de l'eau à analyser.

– Pour les eaux de baignade.

Pratiquer deux dilutions, soit 64 puits au 1/2 et 32 puits au 1/20. La plage de mesures va de 15 à 3,5 . 10^4 germes/100 mL.

– Pour les eaux douces superficielles.

Pratiquer quatre dilutions, soit 24 puits au 1/2, 24 puits au 1/20, 24 puits au 1/200 et 24 puits au 1/2000. La plage de mesures va de 40 à 3,2 . 10^6 germes/100 mL.

– Pour les rejets et stations d'épuration.

Pratiquer six dilutions, soit 16 puits au 1/2, 16 puits au 1/20, 16 puits au 1/200, 16 puits au 1/2 000, 16 puits au 1/20 000 et 16 puits au 1/200 000. La plage de mesures va de 60 à 6,7 . 10^8 germes/100 mL.

Préparation des dilutions

– Cas des eaux douces et des eaux saumâtres dont la salinité mesurée au réfractomètre est inférieure à 30 g/L.

Placer sur un portoir un nombre de tubes stériles correspondant au nombre de dilutions prévues. Introduire dans chacun 9 mL de diluant DSM. Agiter vigoureusement l'échantillon pour obtenir une répartition homogène des micro-organismes. Prélever avec une pipette stérile 9 mL d'échantillon, les introduire dans le premier tube, poursuivre l'inoculation et les dilutions selon les indications données sous le chapitre B-3.

– Cas des eaux de mer dont la salinité est supérieure à 30 g/L.

Procéder comme décrit ci-dessus en utilisant l'eau permutée stérilisée à la place du diluant DSM.

Ensemencement des microplaques

Verser le contenu du premier tube de dilution dans une boîte de Pétri stérile de 90 mm de diamètre. À l'aide de la multipipette, répartir 200 µL dans chacun des puits correspondant à la première dilution. Procéder de même pour chaque dilution en renouvelant pour chacune d'elles la boîte de Pétri et les 8 cônes de la pipette. Prendre garde au risque de contamination par débordement d'un puits dans l'autre. Manipuler les microplaques avec précaution, sans les incliner.

Incubation

Recouvrir les microplaques d'adhésif stérile, les placer à l'étuve réglée à 44 °C. Prolonger l'incubation 36 heures au moins.

Lecture

Placer chaque microplaque dans la chambre d'observation UV. Considérer comme positifs les puits où un trouble et une fluorescence bleue sont

observés. La fluorescence n'évoluant pas dans le temps, la lecture peut éventuellement être différée.

Expression des résultats

– Détermination du nombre caractéristique : pour chaque dilution effectuée, relever le nombre de puits où la réaction est positive.

– Calcul du NPP et de son intervalle de confiance : se reporter aux tables du fabricant.

4.3.5 Méthode simplifiée pour le dénombrement des *Escherichia coli*

Principe

L'échantillon d'eau à analyser est ensemencé dans un milieu gélosé contenant un substrat chromogène ou fluorogène. Après incubation en milieu anaérobie, les colonies caractéristiques révélées par la présence de la β-glucuronidase sont dénombrées et permettent de calculer le nombre d'*Escherichia coli* par mL d'eau.

Matériel spécial

– Matériel de laboratoire courant ; à spécification semblable, matériel jetable et verrerie réutilisable conviennent.

– Four ou autoclave.

– Étuve réglable à 37 °C et à 44,5 °C ± 1 °C.

– Bain-marie réglable à 47 °C ± 2 °C pour maintien en surfusion.

– Boîtes de Pétri stériles.

– Pipettes de 1 et 2 mL graduées en 0,1 mL.

– Table d'observation UV à la longueur d'onde de 365-366 nm.

Réactifs

– Sérum physiologique stérile.

– Géloses ordinaires pour dénombrement.

– Milieu chromogène au BCIG :

Solution de base :

peptone pepsique de viande ou peptone de qualité équivalente	5 g
extrait de levure	3 g
monohydrogénophosphate de potassium	0,3 g
Tergitol 7	0,1 mL
agar-agar (selon pouvoir gélifiant)	12 à 18 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Ajuster le *p*H de la solution pour qu'après stérilisation, il soit de 7,2 à 25 °C. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min. Préparer cette solution extemporanément.

Solution BCIG :

acide 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronique (BCIG)	192 mg
diméthylformamide	5 mL

Dissoudre le BCIG dans le diméthylformamide. Conservée à 4 °C en flacon de verre inactinique, cette solution est stable 6 mois.

Le milieu au BCIG est obtenu en mélangeant 1 L de milieu de base refroidi à 47 °C et 2,5 mL de solution BCIG.

– Milieu fluorogène au MUG :

peptone pepsique de viande ou peptone de qualité équivalente	5 g
extrait de levure	3 g
monohydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4)	0,3 g
Tergitol 7	0,1 mL
agar-agar (selon pouvoir gélifiant)	12 à 18 g
(à déterminer par le pouvoir gélifiant de l'agar-agar)	
4-méthylumbelliferyl-β-D-glucuronide	50 mg
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Ajuster le *p*H de la solution pour qu'après stérilisation, il soit de 7,2 à 25 °C. Stériliser à 121 °C à l'autoclave pendant 15 min. Préparer cette solution extemporanément.

– Gélose non nutritive ou gélose blanche :

agar-agar	12 à 18 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Porter la solution à l'ébullition pour dissoudre l'agar-agar. Ajuster le *p*H de la solution pour qu'après stérilisation, il soit de 7,2 à 25 °C. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min.

■ Mode opératoire

– Dans le cas d'eaux faiblement contaminées, filtrer sur membrane 100 mL d'eau, déposer la membrane sur le milieu retenu, incuber à 44,5 °C pendant 18 à 24 heures.

– Dans le cas d'eaux plus faiblement contaminées, en travaillant stérilement, introduire 1 mL d'échantillon dans une boîte de Pétri. Procéder à une dilution au 1/10 de l'échantillon et introduire stérilement 1 mL de cette dilution dans une autre boîte de Pétri ; poursuivre avec une dilution au 1/100, etc. en changeant de pipette stérile pour chaque dilution. Verser dans chaque boîte de Pétri 15 mL de l'un des deux milieux. Le temps qui s'écoule entre l'introduction de l'échantillon et du milieu doit rester inférieur à 15 min. Mélanger avec soin le milieu et l'échantillon puis poser la boîte de Pétri à plat sur une surface fraîche pour permettre la solidification du milieu de culture. Avec le milieu au MUG, après ensemencement, couler en surface du milieu après sa solidification, 4 mL de gélose blanche maintenue à 47 °C. Laisser solidifier. Retourner les boîtes et les mettre à incuber à l'étuve à 44,5 °C pendant 18 à 24 h.

■ Dénombrement des colonies

Sur milieu au BCIG

Pour chaque boîte de Pétri, compter le nombre de colonies d'*Escherichia coli* caractérisées par leur coloration bleue. Ne retenir que les boîtes pour lesquelles le nombre de colonies, caractéristiques ou non, est inférieur à 150.

Sur milieu au MUG

Pour chaque boîte de Pétri, compter le nombre de colonies d'*Escherichia coli* caractérisées par leur fluorescence bleue. Ne retenir que les boîtes pour lesquelles le nombre de colonies, caractéristiques ou non, est inférieur à 150.

Expression des résultats

Ne prendre en compte que les boîtes au niveau de deux dilutions successives comportant plus de 15 et moins de 150 colonies.

Le nombre *N* d'*Escherichia coli* par mL d'eau en moyenne pondérée est calculé à partir de l'équation suivante :

$$N = \frac{C}{1{,}1\ d}$$

ΣC = Somme des colonies sur les deux boîtes successives prises en compte.

d = Taux de dilution de la première dilution considérée.

Les résultats sont arrondis à deux chiffres significatifs.

Remarques

– Si la présence d'*Escherichia coli* stressés est suspectée, procéder à une incubation de 4 h à 37 °C suivie d'une incubation de 18 à 20 h à 44,5 °C.

– Pour faciliter le dénombrement des colonies fluorescentes, effectuer la lecture des boîtes en chambre noire.

– Il existe des tests commerciaux permettant la détection des *E. coli* ou coliformes en moins de 20 heures. Dans certains pays, ils sont utilisés comme une méthode alternative au dénombrement.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF EN ISO 9308-3 (mars 1999). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des *E. coli* et des bactéries coliformes dans les eaux de surface et résiduaires – Partie 3 : méthode minuaturisée (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide.

4.4 Dénombrement des *Enterococcus*

4.4.1 Classification. Intérêt et modalités de leur recherche

Anciennement la législation parlait de « streptocoques fécaux ».
Sous cette dénomination générale, il faut entendre l'ensemble des streptocoques possédant la substance (acide teichoïque) antigénique caractéristique du groupe D de Lancefield, c'est-à-dire essentiellement : *Enterococcus faecalis, E. faecium, E. durans, E. hirae, Streptococcus bovis, S. suis* et *S. equinus.* Ces streptocoques du groupe D sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale, car tous ont un habitat fécal. On dit maintenant recherche des entérocoques intestinaux.
Les dénombrements des entérocoques présumés sont rarement effectués indépendamment des dénombrements de coliformes et coliformes thermotolérants présumés. Les méthodes sont analogues pour ces deux types d'indicateurs et seuls les milieux diffèrent. Il convient donc de se reporter pour le choix des méthodes et des prises d'essai aux indications données pour les coliformes (B-4.3). Toutefois, d'une façon générale, les concentrations en streptocoques fécaux sont, dans les milieux naturels autres que ceux spécifiquement pollués par le bétail, inférieurs à celles des coliformes

fécaux. Il faudra tenir compte de cette différence des concentrations (que l'on peut évaluer à un rapport de 1 à 2 ou 4) dans les choix des prises d'essai.

4.4.2 Méthode par filtration sur membrane

■ Principe

Après filtration sur membrane de cellulose, celle-ci est appliquée sur un support nutritif contenant des substances inhibitrices qui laissent se développer préférentiellement les colonies de streptocoques fécaux.

□ Milieux de culture

– Milieu de Slanetz et Bartley :

Dans 1 litre d'eau déionisée, dissoudre :

peptone	20 g
extrait de levure	5 g
glucose	2 g
monohydrogénophosphate de potassium	4 g
azide de sodium	0,4 g

Ajuster le *p*H à 7,2. Ajouter 10 g d'agar et dissoudre par chauffage doux, sans dépasser 100 °C. Refroidir à 50 °C. Ajouter 10 mL d'une solution stérile de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium (TTC) à 1 %. Couler en boîtes de Pétri de 50 mm. Laisser refroidir. Se conserve 3 à 4 semaines à 2-5 °C.

Le milieu de base existe commercialement sous forme déshydratée, ou prêt à l'emploi. Des ampoules de solution de chlorure de triphényltétrazolium à 1 % sont également commercialisées sous présentation correspondant à celle du milieu de base.

– Milieu « Bile Esculine Agar » (Milieu BEA) :

Dans un litre d'eau déionisée dissoudre en portant à l'ébullition.

tryptone	17 g
peptone	3 g
extrait de levure	5 g
bile déshydratée de bœuf	10 g
NaCl	5 g
citrate de sodium	1 g
esculine	1 g
citrate de fer ammoniacal	0,5 g
azide de sodium (NaN_3)	0,25 g
gélose	15 g

Ajuster le *p*H de telle façon qu'après stérilisation il soit à 7,1 ± 0,1 à 25 °C. Répartir à raison de 100 mL dans des flacons de 200 mL. Stériliser pendant 15 minutes à 121 ± 1 °C.

Pour l'emploi, couler ce milieu après fusion et refroidissement à 50-60 °C, dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, à raison de 20 mL par boîte.

■ Mode opératoire

Filtrer selon les indications données au chapitre B-3.1. Placer la membrane sur une boîte de milieu de Slanetz et Bartley. Incuber pendant 48 heures à

44 °C. Compter alors toutes les colonies rouges, violettes ou roses visibles sur la boîte (réduction du TTC).

Il est cependant possible d'obtenir une confirmation rapide en déposant une goutte de solution de peroxyde d'hydrogène à 3 % sur les colonies suspectes. Si celles-ci contenaient une catalase, des bulles de gaz se dégageraient spontanément. Elles ne pourraient alors être considérées comme étant des colonies de streptocoques du groupe D présumés (la cause d'erreur la plus fréquente provient des staphylocoques qui sont à catalase +).

Il est possible, pour plus de précision, de repiquer les colonies suspectes (ou de transférer la membrane) sur BEA. Lecture après quelques heures du halo noir.

■ Expression des résultats. Choix des prises d'essai

Les résultats du dénombrement de streptocoques fécaux sont exprimés en nombre de germes par 100 mL. Les volumes d'échantillon à filtrer sont choisis en fonction des indications correspondantes données pour le dénombrement des coliformes.

Méthode de référence

Norme AFNOR NF ISO 7899-2 (août 2000). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux – Partie 2 : méthode par filtration sur membrane.

4.4.3 Méthode par ensemencement en milieu liquide pour détermination du nombre le plus probable (méthode en tubes)

■ Principe

Les principes généraux de cette méthode sont ceux décrits dans l'exposé de la colimétrie en milieux liquides (B-4.3). Cependant, alors que le tube primaire contient déjà une certaine quantité d'azide de sodium, le repiquage des tubes « positifs » sur un milieu nettement plus inhibiteur (plus forte concentration en azide de sodium et présence d'éthyl violet), ne laisse se développer que les streptocoques fécaux.

□ Milieux d'isolement

– Milieu de Rothe normal.

Dans 1 litre d'eau déionisée, dissoudre par chauffage doux :

peptone	20 g
glucose	5 g
chlorure de sodium	5 g
monohydrogénophosphate de potassium	2,7 g
dihydrogénophosphate de potassium	2,7 g
azide de sodium (NaN_3)	0,2 g

Ajuster le *p*H à 6,8-7. Répartir (10 mL exactement) dans des tubes de 160 × 16 mm. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C.

– Milieu de Rothe double concentration.

Procéder de la même manière, mais en doublant la masse des réactifs. Le *p*H doit être compris entre 6,8 et 7. Répartir en tubes de 220 × 22 mm (10 mL) ou en tubes de

330 × 33 mm (50 mL). Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C.

Ces deux milieux doivent être mis à l'abri de toute évaporation ; ne pas utiliser de bouchon de coton. Ils existent commercialement sous forme déshydratée ou prêts à l'emploi.

– Milieu de Litsky.

Dans 1 litre d'eau déionisée, dissoudre par chauffage doux :

peptone	20 g
glucose	5 g
chlorure de sodium	5 g
monohydrogénophosphate de potassium	2,7 g
dihydrogénophosphate de potassium	2,7 g
azide de sodium (NaN_3)	0,3 g
solution d'éthyl violet	5 mL

Répartir (10 mL) dans des tubes de 160 × 16 mm. Stériliser à l'autoclave à 121 °C.

Existe commercialement sous forme déshydratée ou prêt à l'emploi. La teneur en éthyl violet doit être déterminée en préparant des milieux de teneur variable (3,5-4-4,5-5-5,5-6-6,5 mL/L) et en les ensemençant d'un *Bacillus subtilis*, d'un *Streptococcus faecalis* ou d'un *Streptococcus bovis*. La teneur à retenir est celle pour laquelle la culture de *Bacillus* est inhibée, alors que les *Streptococcus* se développent.

■ Mode opératoire

Test présomptif

Ensemencer le nombre choisi de tubes de milieu de Rothe (constituant les tubes « primaires »), en utilisant soit du milieu à double concentration (pour les ensemencements de 10 ou 50 mL) soit du milieu à simple concentration (pour les ensemencements de 1 mL d'eau ou de dilution de l'eau). Veiller à ce qu'aucune évaporation ne se soit produite dans le milieu depuis sa préparation, car celle-ci entraînerait une concentration des produits inhibiteurs. Homogénéiser soigneusement, par agitation, le contenu des tubes ; s'assurer, une fois celle-ci terminée, que la teinte du bouillon est uniforme en haut et en bas du tube, de façon à ce que la concentration en inhibiteur soit identique en tous points.

Incuber les tubes à 37 °C et les examiner après 24 et 48 heures. Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test confirmatif.

Test confirmatif

Après agitation des tubes positifs, prélever sur chacun d'eux successivement 3 öses bouclées (de 3 mm de diamètre) ou quelques gouttes de pipette Pasteur, et les reporter dans des tubes du milieu de Litsky à l'éthyl violet et azide de sodium. Incuber à 37 °C pendant 24-48 heures. L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence d'un streptocoque fécal. Parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble.

Avec un milieu parfaitement préparé, il n'y a pratiquement pas de fausses réactions. Éventuellement contrôler le diagnostic bactériologique par un simple examen microscopique (direct ou après coloration de Gram) qui doit faire apparaître la présence de *cocci* à Gram positif, en courtes chaînettes

ou en diplocoques, et l'absence de bacilles à Gram positif, qui pourraient faire soupçonner la présence de *Bacillus*, germes responsables des fausses réactions les plus fréquentes.

■ Expression des résultats. Choix des prises d'essai

Les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux sont exprimés comme ceux d'*Escherichia coli* en nombre de germes par 100 mL.

Il est souhaitable de préciser « nombre le plus probable » avant le nombre représentant le résultat et d'indiquer à la suite les résultats extrêmes dans la limite de confiance de 95 % donnée par les tables.

Le même type d'ensemencement utilisé pour *E. coli* peut être employé, pour un même type d'eau, pour les streptocoques fécaux.

> **Remarque**
>
> Cette méthode a été longtemps considérée en France comme la méthode de référence ; elle a été assez critiquée ces dernières années, notamment dans sa deuxième étape, en raison en particulier de la difficulté d'obtenir une qualité stable d'éthyl violet. La variante suivante peut être utilisée pour le test confirmatif.
>
> *Test confirmatif sur milieu de « Bile Esculine Agar »*
>
> Prélever une anse de culture dans chacun des tubes de milieu présomptif « positif », après l'avoir agité. L'ensemencer par un trait sur une gélose BEA (plusieurs traits séparés, correspondant à chaque tube, peuvent être déposés sur la même boîte). Incuber à 44 °C ± 0,5 °C pendant 48 heures. Considérer comme provenant d'un tube positif confirmé toutes les stries où se développent des colonies entourées d'un halo noir.

Méthode de référence

NF EN ISO 7899-1 (mars 1999). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et résiduaires – Partie 1 : méthode miniaturisée (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide.

4.4.4 Méthode de dénombrement des *Enterococcus* par ensemencement en milieu liquide (NPP) sur microplaque

■ Principe

La prise d'essai d'eau à analyser est inoculée sous des dilutions successives dans un total de 96 puits d'une microplaque contenant le milieu de culture sélectif (acétate de thallium, acide nalidixique) et β-D-MUD (4-méthylumbelliferyl-β-D-glucoside) déshydratés. La lecture est faite après 36 heures d'incubation à 44 °C ± 0,5 °C par examen des plaques sous rayonnement UV à 366 nm, à l'obscurité et notation du nombre de puits ayant une réaction positive (dégradation du MUD et libération de composés fluorescents par β-glucosidase, enzyme responsable de la dégradation de l'esculine).

■ Domaine d'application

Cette méthode de numération-identification en un temps des seuls *Enterococcus* par ensemencement en milieu liquide de dilutions successi-

ves pour détermination du NPP est applicable aux eaux de surface et résiduaires, en particulier à celles chargées en matières en suspension mais non applicable aux eaux potables.

Matériel spécial

– Microplaques 96 puits de 350 µL, à fond plat, stériles (commercialisées prêtes à l'emploi avec milieu déshydraté).

– Adhésifs stériles pour microplaques.

– Micropipettes à 8 canaux réglable ou préréglée pour mesurer et distribuer 200 µL par canal.

– Cônes stériles pour micropipette.

– Système de filtration à 0,22 µm.

– Chambre d'observation UV.

Diluant et milieux de culture

– Diluant DSM :

sel marin synthétique	22,5 g
eau déionisée	1 000 mL

Stériliser la solution à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 min.

– Eau permutée stérilisée à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 min.

– Milieu de culture MU/SE.

Ce milieu de culture est obtenu par mélange des quatre solutions suivantes :

Solution A :

tryptose Difco	40 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	10 g
D + galactose	2 g
Tween 80	1,5 mL
eau déionisée	900 mL

Dissoudre tryptose, l'hydrogénophosphate de potassium, galactose et Tween 80 dans 900 mL d'eau permutée en maintenant un chauffage doux et une agitation magnétique puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète. Laisser refroidir.

Solution B :

hydrogénophosphate de sodium	4 g
acide nalidixique	250 mg
eau déionisée	50 mL

Dissoudre l'hydrogénophosphate de sodium et l'acide nalidixique dans 50 mL d'eau permutée en maintenant un chauffage doux et une agitation magnétique. Après dissolution complète, laisser refroidir.

Solution C :

acétate de thallium	2 g
chlorure de triphényl tétrazolium	0,1 g
eau déionisée	50 mL

Dissoudre l'acétate de thallium et le chlorure de triphényl tétrazolium dans 50 mL d'eau permutée en maintenant un chauffage doux et une agitation magnétique. Après dissolution, laisser refroidir.

Solution D (4-méthylumbelliferyl-β-D-glucoside) :

MUD	150 mg
N,N-diméthylformamide	2 mL

Mélanger les quatre solutions ci-dessus, ajuster le *p*H à 7,5 ± 0,1. Stériliser par filtration à 0,22 µm.

– Préparation des microplaques.

Répartir 100 µL de milieu de culture dans chacun des 96 puits de microplaque. Sécher immédiatement sous tunnel de séchage ou hotte à flux laminaire.

■ Mode opératoire

Choix des dilutions

Le nombre de dilutions à ensemencer est adapté à l'origine et à la qualité de l'eau à analyser.

– Pour les eaux de baignade.

Pratiquer deux dilutions, soit 64 puits au 1/2 et 32 puits au 1/20. La plage de mesures va de 15 à 3,5 . 10^4 germes/100 mL.

– Pour les eaux douces superficielles.

Pratiquer quatre dilutions, soit 24 puits au 1/2, 24 puits au 1/20, 24 puits au 1/200 et 24 puits au 1/2 000. La plage de mesures va de 40 à 3,2 . 10^6 germes/100 mL.

– Pour les rejets et stations d'épuration.

Pratiquer six dilutions soit 16 puits au 1/2, 16 puits au 1/20, 16 puits au 1/200, 16 puits au 1/2 000, 16 puits au 1/20 000 et 16 puits au 1/200 000. La plage de mesures va de 60 à 6,7 . 10^8 germes/100 mL.

Préparation des dilutions

– Cas des eaux douces et saumâtres dont la salinité mesurée au réfractomètre est inférieure à 30 g/L.

Placer sur un portoir un nombre de tubes stériles correspondant au nombre de dilutions prévues. Introduire dans chacun 9 mL de diluant DSM. Agiter vigoureusement l'échantillon pour obtenir une répartition homogène des micro-organismes. Prélever avec une pipette stérile 9 mL d'échantillon, les introduire dans le premier tube, poursuivre l'inoculation et les dilutions selon les indications données dans le chapitre E.3.

– Cas des eaux de mer dont la salinité est supérieure à 30 g/L.

Procéder comme décrit ci-dessus en utilisant de l'eau permutée stérile à la place du diluant DSM.

Ensemencement des microplaques

Verser le contenu du premier tube de dilution dans une boîte de Pétri stérile de 90 mm de diamètre. À l'aide d'une micropipette, répartir 200 µL dans chacun des puits correspondant à la première dilution. Procéder de même pour chaque dilution en renouvelant pour chacune d'elle la boîte de Pétri et les cônes de la pipette. Prendre garde au risque de contamination par débordement d'un puits dans l'autre, manipuler les microplaques avec précaution, sans les incliner.

Incubation

Recouvrir les microplaques d'adhésif stérile, les placer à l'étuve réglée à 44 °C. Prolonger l'incubation 36 heures au moins.

Lecture

Placer chaque microplaque dans la chambre d'observation UV.

Considérer comme positifs les puits où un trouble et une fluorescence bleue sont observés. La fluorescence n'évoluant pas dans le temps, la lecture peut éventuellement être différée.

■ **Expression des résultats**

Détermination du nombre caractéristique : pour chaque dilution effectuée, relever le nombre de puits où la réaction est positive.

Calcul du NPP et de son intervalle de confiance : se reporter aux tables du fabricant.

Méthode de référence

NF EN ISO 7899-1 (mars 1999). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et résiduaires – Partie 1 : méthode miniaturisée (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide.

4.4.5 Identification des streptocoques du groupe D

Il est possible d'utiliser les diverses méthodes de la microbiologie médicale, comme les galeries d'identification miniaturisées à 20 (ou 32) caractères proposées par « API System » permettant une identification précise des diverses espèces de *Streptococcus* et *Enterococcus*, dispensant de la caractérisation immunologique de l'antigène de groupe D, toujours difficile.

4.5 Recherche et dénombrement des bactéries sulfito-réductrices et de leurs spores

4.5.1 Signification de la recherche de ces bactéries

Parmi les paramètres retenus pour déterminer la qualité microbiologique d'une eau d'alimentation, les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont pris en compte aussi bien dans la réglementation française que dans la directive du Conseil des communautés économiques européennes de 1980 ; les références aux méthodes d'analyse indiquent que ce sont les formes sporulées qui sont recherchées.

Une certaine confusion cependant existe dans l'interprétation des résultats de ces recherches ; or le choix des modalités du diagnostic bactériologique dépend du but poursuivi. Il convient donc d'envisager quel peut être celui-ci. Le plus souvent, les indications attendues concernent :

– l'origine de la pollution :

les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente.

Sans débattre de l'intérêt réel d'une telle indication concernant la date de la pollution, il faut cependant considérer que si les *Clostridium* sulfito-réducteurs peuvent certes être des germes fécaux, ce sont également des germes telluriques et que, de ce fait, aucune spécificité d'origine fécale ne peut être attribuée à leur mise en évidence.

Dans une telle optique d'interprétation, il y a intérêt à ne rechercher que les espèces les plus susceptibles d'être d'origine fécale : c'est le cas en particulier de *Clostridium perfringens* ;

– la protection d'une nappe, et en particulier d'une nappe alluviale :

les *Clostridium* sulfito-réducteurs étant pratiquement toujours présents dans les rivières et le sol, leur absence dans une nappe sous-jacente, et surtout l'absence de leurs spores, de moindre taille et plus difficiles à retenir, constituent un bon signe de l'efficacité de la filtration naturelle ;

– l'efficacité d'un traitement physique :

une filtration sur sable dans une usine de traitement d'eau reproduisant artificiellement le phénomène naturel, une absence de spores, à l'aval du traitement est donc, de même, un bon signe de son efficacité ;

– la présence de germes considérés non plus comme des indicateurs, mais constituant, eux-mêmes, une nuisance :

c'est particulièrement le cas lorsque l'eau est utilisée dans l'industrie alimentaire ; certains *Clostridium* (qu'il sera utile d'identifier) constituent une nuisance d'ordre technologique, alors que *Clostridium perfringens* constitue de plus une nuisance d'ordre sanitaire.

Différentes méthodes permettent de réaliser des examens répondant à ces objectifs.

1) Si la présence de spores est recherchée comme une défaillance dans une filtration, naturelle ou artificielle, peu importe l'identification du germe d'où elles procèdent. Il est cependant pratique, du point de vue technique, de pratiquer la recherche et le dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices (B-4.5.2 à B-4.5.4), car cette activité biologique permet de déceler aisément les bactéries qui la possèdent, dans des milieux ensemencés et incubés selon des conditions éliminant de nombreux germes qui rendraient plus délicat le diagnostic ;

2) s'il est plus particulièrement souhaité de mettre en évidence spécialement les bactéries du genre *Clostridium*, et éventuellement de poursuivre une identification des espèces (examen surtout intéressant si l'eau est employée dans l'industrie alimentaire, mais qui sort du domaine de cet ouvrage) l'examen peut être poursuivi selon la méthode « Recherche et dénombrement des spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs (B-4.5.5) » ;

3) si le dénombrement des seules spores de *C. perfringens* est souhaité, le choix peut être fait entre deux méthodes ;

• La première est une identification de cette espèce à partir des milieux inoculés pour le dénombrement de spores de bactéries sulfito-réductrices, qu'il s'agisse de milieux liquides ou solides ;

• La deuxième met en œuvre, après une filtration sur membrane, des conditions spécialement sélectives pour la culture de *C. perfringens* sans passage par un dénombrement intermédiaire de spores de bactéries sulfito-réductrices. Elle pourra être appliquée, telle qu'elle est décrite, si les spores sont recherchées comme témoins d'une pollution fécale ancienne, ou bien sans le traitement initial destiné à éliminer les formes végétatives, si c'est le germe éventuellement pathogène *C. perfringens*, qui doit être recherché et dénombré.

Toutes les méthodes utilisent comme révélateur du caractère réducteur, du sulfite (ou du métadisulfite) de sodium et des sels de fer. La réduction de sulfite en sulfure entraîne la formation de sulfure de fer qui forme un halo noir autour des colonies isolées en milieu solide, ou qui colore uniformément en noir les milieux liquides. La teneur en sulfites est une caractéristique des divers milieux proposés. Une teneur élevée est inhibitrice pour un certain nombre d'espèces, alors qu'elle est tolérée par certaines autres, notamment *C. perfringens.* L'élévation de la température d'incubation produit les mêmes conséquences.

4.5.2 Méthode par incorporation en gélose

■ Principe

Après destruction des formes végétatives par chauffage à 80 °C, l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu, régénéré, additionné de sulfite de sodium et de sels de fer. La composition du milieu est établie pour tenir compte d'un volume déterminé d'eau incorporée. L'incorporation se fait dans un tube et non dans une boîte afin de limiter la surface de contact entre le milieu et l'air. Après solidification et incubation, la présence de germes sulfito-réducteurs se traduit par un halo noir autour des colonies.

■ Domaine d'application

Ce type de méthode est préconisé par la réglementation française des eaux d'alimentation selon la modalité décrite ci-après. Celle-ci ne permet qu'une prise d'essai globale de 20 mL. Il n'est donc pas possible de dénombrer avec précision des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices pour de faibles concentrations. Cependant, elle permet de vérifier la conformité aux exigences de la directive du Conseil des communautés européennes, puisque celles-ci ne tolèrent qu'une seule spore dans une prise d'essai de 20 mL. Cette méthode est de plus intéressante pour le dénombrement des spores dans les eaux turbides et abondamment polluées par des bactéries.

□ Milieux de culture et réactifs

– Gélose viande-foie.

La fabrication de ce milieu est assez complexe. Des préparations ou des milieux déshydratés de composition voisine sont commercialisés. Il faudra s'assurer pour leur emploi que les volumes d'échantillon et de milieu à mélanger sont bien adaptés aux formules des milieux choisis.

La préparation de ce milieu se fait à partir d'un bouillon viande-foie, qui peut être conservé et à partir duquel est préparée la gélose viande-foie.

Bouillon viande-foie :

Dans un récipient de 12 litres, introduire 9 litres d'eau du robinet. Porter à 48-50 °C. Ajouter :

viande de bœuf dégraissée et hachée	1 800 g
foie de bœuf paré et haché	500 g
acide chlorhydrique pur	75 mL
pepsine (titre 500)	5 g

Maintenir 20 heures au bain-marie à 48 °C en agitant de temps en temps. Arrêter la digestion en portant 5 minutes à ébullition. Filtrer sur papier Chardin. Répartir dans des flacons. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C.

Gélose glucosée VF :

Dans 1 000 mL du bouillon précédent, ajouter 9 mL de lessive de soude pure. Ajuster le *p*H à 7,6. Ajouter 15 g d'agar lavé. Dissoudre par chauffage doux. Stériliser 10 minutes à l'autoclave à 120 °C. Filtrer sur papier en vapeur fluente. Ajouter 2 g de glucose. Répartir (20 mL) dans des tubes de 220 × 22 mm. Stériliser 30 minutes à l'autoclave à 115 °C.

Il existe, commercialement, prête à l'emploi, une gélose viande-foie solide à 15 % de gélose ou sous forme déshydratée, une gélose viande foie-glucose.

– Solution de sulfite de sodium :

sulfite de sodium pur, cristallisé (50 % d'H_2O)	1 g
eau déionisée (stérilisée par chauffage 10 minutes au bain d'eau bouillant)	9 mL

Préparer stérilement et répartir en petits flacons ou tubes à usage unique, entièrement remplis et bouchés hermétiquement. Ils pourront être conservés deux semaines à + 4 °C.

– Solution de sulfate de fer et de potassium :

sulfate de fer et de potassium	1 g
eau déionisée stérile	19 mL

La solution est à préparer aseptiquement et ne doit pas être autoclavée. Répartir et conserver comme la solution de sulfite.

■ Mode opératoire

Destruction des formes végétatives

Placer 25 mL d'eau à analyser dans un tube de 220 × 22 mm. Le porter au bain d'eau à 80 °C ± 2 °C de façon à ce qu'il demeure dix minutes à cette température. Refroidir rapidement à environ 55 °C.

Préparation du milieu

Placer quatre tubes de milieu de culture (contenant chacun 20 mL de milieu) au bain d'eau bouillant pour assurer la fusion du milieu. Maintenir 10 minutes dans ce bain d'eau pour assurer l'élimination des gaz dissous. Refroidir à 55 °C environ. Ajouter à chaque tube 1 mL de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer. Mélanger sans faire de bulles.

Inoculation et incubation

Dans quatre tubes stériles de 220 × 22 mm, répartir 5 mL d'eau traitée pour détruire les formes végétatives. Couler dans chacun d'eux le contenu d'un tube de milieu, mélanger doucement sans incorporer d'air.

Refroidir sous l'eau du robinet. Incuber à 37 °C. Faire une lecture après 24 heures ; une deuxième après 48 heures.

■ Lecture et expression des résultats

Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir. Exprimer le résultat en nombre de spores par 100 mL.

Il est indispensable de procéder à une lecture dès la 24e heure : en présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible à la 48e heure. Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture, et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes.

4.5.3 Méthode par enrichissement en milieu liquide

■ Principe

Après destruction des formes végétatives par chauffage assez long pour permettre une sélection des spores dans l'échantillon, la méthode utilise comme révélateur l'action réductrice du sulfite ou du bisulfite et des sels de fer. En présence de spores de bactéries sulfito-réductrices, l'ensemencement dans des tubes de milieu de culture liquide permettant la reprise des formes végétatives entraîne la formation de sulfure de fer qui colore uniformément en noir les milieux liquides.

☐ Matériel spécial

- Verrerie et matériel de laboratoire habituellement utilisés en bactériologie.
- Flacons avec bouchons à vis borosilicatés ou non de 200, 100 et 25 mL.
- Pipettes jaugées de 10 et 1 mL.
- Tubes à essai de 150 × 13 mm.
- Bain thermostaté.
- Étuve réglable à 37 °C ± 1 °C.

☐ Réactifs

- Eau physiologique stérile ou Ringer.
- Milieu renforcé spécial pour les *Clostridia* (DRCM)

Milieu de base simple concentration :

viande digérée dans la peptone tryptique	10 g
extrait de viande	10 g
extrait de levure	1,5 g
amidon	1 g
acétate de sodium hydraté	5 g
glucose	1 g
chlorhydrate de L-cystine	0,5 g
eau déionisée	1 000 mL

Ajouter à 800 mL d'eau permutée, l'extrait de viande, l'acétate de sodium et l'extrait de levure. Dissoudre l'amidon dans les 200 mL restant en procédant ainsi : le délayer dans un peu d'eau, porter le reste à l'ébullition, l'ajouter peu à peu dans la pâte d'amidon en agitant. Verser la solution d'amidon dans le mélange précédent, chauffer au voisinage de l'ébullition pour dissoudre les composants puis ajouter le glucose et le chlorhydrate de L-cystine. Après dissolution, ajuster le *p*H à 7,1-7,2 avec une solution d'hydroxyde de sodium *N*. Répartir 25 mL de milieu dans des flacons avec bouchons à vis de 25 mL. Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min.

Milieu de base double concentration :

Préparer le milieu de la même façon que le précédent mais utiliser 500 mL d'eau seulement. Le répartir dans des flacons avec bouchons à vis de 25 et 100 mL de capacité à raison de 10 mL et 50 mL respectivement. Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min.

- Solution de sulfite de sodium à 4 % :

sulfite de sodium anhydre	4 g
eau déionisée	100 mL

Stériliser par filtration. Conservée entre 2 et 5 °C, la solution est stable deux semaines.

– Solution de citrate de fer à 7 % :

citrate de fer ($C_6H_5O_7Fe$)	7 g
eau déionisée	100 mL

Stériliser par filtration. Conservée entre 2 et 5 °C, la solution est stable deux semaines.

– Milieu complet.

Au moment de l'emploi, mélanger à parties égales les solutions de sulfite de sodium et de citrate de fer. Ajouter 0,5 mL du mélange dans chaque flacon de milieu de simple concentration réchauffé puis refroidi. Pour le milieu double concentration, ajouter 0,4 mL dans les flacons contenant 10 mL de milieu et 2 mL dans ceux en contenant 50 mL.

■ Mode opératoire

Chauffer l'échantillon à analyser dans un bain-marie réglé à 75 °C w 5 °C pendant 15 min. Procéder de même sur un même volume d'eau déionisée dans lequel un thermomètre permettra de contrôler l'obtention et le maintien de la température pendant le temps nécessaire à la destruction des formes végétatives.

Introduire 50 mL d'échantillon ainsi traité dans un flacon contenant 50 mL de milieu double concentration puis 10 mL à une série de cinq flacons de 25 mL contenant 25 mL du milieu double concentration, puis 1 mL à une série de cinq flacons contenant 25 mL de milieu simple concentration et enfin, si nécessaire 1 mL d'une dilution au 1/10 à une série de cinq flacons contenant 25 mL de milieu simple concentration. Placer les flacons inoculés à l'étuve ou au bain-marie réglé à 37 °C pendant 44 h ± 4 h.

Considérer comme positifs les flacons où le milieu présente un noircissement par suite de la formation de sulfure de fer due à la réduction du sulfite de sodium.

■ Expression des résultats

Exprimer les résultats en nombre le plus probable de spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices dans 100 mL. Se reporter aux tables du chapitre B-3.3.2.

Remarques

– Si une très faible concentration de spores de bactéries sulfito-réductrices est attendue, par exemple dans le cas d'eau potable ou embouteillée, procéder à un test qualitatif sur 100 mL d'échantillon dans un flacon de 200 mL contenant 100 mL de milieu double concentration sans définir le NPP.

– Au cours de l'incubation de ces flacons très remplis, certains risquent d'exploser en raison de la production de gaz.

L'introduction d'un fil de fer porté au rouge dans le milieu avant l'inoculation peut favoriser l'anaérobiose.

– Les milieux de culture peuvent être conservés à l'obscurité, à 4 °C pendant au maximum 1 mois.

4.5.4 Méthode par filtration sur membrane

■ Principe

Après traitement de l'échantillon par la chaleur pour détruire les formes végétatives, la filtration sur membrane 0,2 µm permet de retenir les spores des bactéries. Cette membrane est déposée sur un milieu sélectif (gélose contenant du sulfite de sodium et des sels de fer) incubé dans des conditions permettant une croissance en anaérobiose. Les colonies sulfito-réductrices sont reconnaissables par un halo noir.

☐ Matériel spécial

- Verrerie et matériel de laboratoire habituellement utilisés en bactériologie.
- Ballons et fioles en verre de 2 litres.
- Tubes à essai de 160 mm × 16 mm.
- Pipettes graduées au 1/10 de 10 mL.
- Pipettes jaugées de 10 mL.
- Flacons de 1 L.
- Marmite à vapeur.
- Bain-marie.
- Appareil de filtration à membrane.
- Membranes filtrantes stériles (dimension des pores 0,2 µm).
- Boîtes de Pétri.
- Étuve réglable à 37 °C ± 1 °C.

☐ Réactifs

- Milieu sulfite, fer, gélose.

Milieu de base (gélose nutritive) :

extrait de viande		3 g
peptone		10 g
chlorure de sodium		5 g
gélose		15 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Introduire les composants dans l'eau, les dissoudre par chauffage à la vapeur. Ajuster le *p*H à 7,6 ± 1 avec une solution d'hydroxyde de sodium *N*. Répartir dans des tubes à raison de 18 mL par tube. Stériliser à 121 °C ± 1 °C à l'autoclave pendant 20 min. Après solidification, conserver les tubes à 4 °C.

Solution de sulfite de sodium à 10 % :

sulfite de sodium anhydre		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Renouveler cette solution toutes les deux semaines.

Solution de sulfate de fer à 8 % :

sulfate de fer cristallisé ($FeSO_4$)		8 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Le milieu complet sulfate, sulfite, fer, gélose est préparé extemporanément, se reporter au mode opératoire.

Mode opératoire

Disposer le volume choisi pour la prise d'essai dans un (ou plusieurs) tubes ou flacons. Utiliser 100 mL pour les eaux potables, de source ou de puits et un volume plus faible pour les eaux polluées ; compléter à 100 mL avec de l'eau permutée stérile ou un diluant. Prévoir une dilution suffisante pour obtenir éventuellement des colonies noires bien séparées, faciles à compter. Placer dans un bain d'eau réglé à 75 °C ± 5 °C. Disposer des récipients témoins, identiques et contenant le même volume d'eau du robinet, dans le même bain-marie contenant en permanence un thermomètre. Utiliser des bains d'eau de taille suffisante où la circulation de l'eau est assurée de façon satisfaisante pour que la température soit homogène dans l'ensemble du bain. Lorsque la température de l'eau atteint 75 °C ± 5 °C, maintenir les récipients au bain d'eau durant 15 min pour assurer la destruction des formes végétatives.

Avant la filtration, faire fondre le milieu de base gélosé contenu dans les tubes au bain-marie bouillant. Laisser refroidir à environ 50 °C et ajouter à chaque tube 1 mL de solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de solution de sulfate de fer. Mélanger par agitation douce, en évitant toute pénétration d'air.

Filtrer la prise d'essai de l'échantillon préalablement chauffé. Après filtration, déposer chaque membrane, face en-dessus, au fond d'une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, stérile et vide.

Vérifier l'absence de bulles d'air entre le fond de la boîte et la membrane, verser le contenu d'un tube de milieu refroidi à 50 °C environ, par boîte, en évitant la formation de bulles ; pour cela, maintenir la membrane en contact avec le fond de la boîte avec des pinces stériles. Laisser solidifier sur une surface horizontale puis incuber en anaérobiose à 37 °C ± 1 °C pendant 20 heures ± 4 heures.

Dans le cas de l'utilisation d'un incubateur anaérobie, disposer les membranes sur la surface de la gélose, la face supérieure tournée vers le haut.

Considérer comme provenant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice chaque colonie présentant une coloration noire et entourée d'un halo noir, visible autour de la colonie ou sous la membrane.

Compter sur chaque boîte le nombre de ces colonies après 20 heures d'incubation. Si aucune colonie ne s'est développée, ou si elles sont très petites, prolonger l'incubation de 24 heures. Si les halos sont importants dès la première lecture, prendre note du comptage des colonies car la prolongation de l'incubation peut provoquer une diffusion des halos rendant toute lecture impossible.

Expression des résultats

En tenant compte du volume de la prise d'essai et du nombre de colonies observées sur la membrane, exprimer le résultat en nombre de spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices dans 100 mL.

Remarque

Le milieu tryptose, sulfite, gélose peut être utilisé à la place de celui décrit ci-dessus :

tryptose	15 g
soaitone	5 g
extrait de levure	5 g
métadisulfite de sodium	1 g
citrate de fer et d'ammonium	1 g
eau déionisée	1 000 mL

Dissoudre les composants dans l'eau par chauffage à la vapeur, ajuster le *p*H à 7,6 ± 0,1. Répartir en tubes à raison de 18 mL par tube. Stériliser à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min.

4.5.5 Recherche et dénombrement des spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs

Dans de nombreux ouvrages et publications, sont décrites sous cette dénomination des techniques qui ne sont en fait que des dénombrements de bactéries anaérobies sulfito-réductrices sans que puisse être affirmée leur appartenance au genre *Clostridium.*

En fait, cette étape de dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs ne présente en elle-même guère d'intérêt, entre les dénombrements globaux des spores de bactéries sulfito-réductrices permettant d'apprécier la qualité d'une filtration et les dénombrements des *C. perfringens*, ayant dans une certaine mesure une signification de contamination fécale.

Le passage par les procédés de dénombrement des spores de bactéries sulfito-réductrices, dans leur ensemble, conduit au développement de nombreuses colonies susceptibles d'être des *C. perfringens* mais qu'il est nécessaire d'identifier. Ceci entraîne le repiquage de nombreuses colonies (au moins 10 dans le procédé décrit ci-dessus), donc un travail important, et, malgré cela, une assez grande incertitude dans l'extrapolation des résultats obtenus sur cet échantillonnage à l'ensemble des colonies dénombrées.

Pour obtenir le seul dénombrement des spores de *C. perfringens*, il est préférable d'inoculer et de cultiver l'échantillon dans des conditions immédiatement sélectives pour cette espèce. Procéder comme pour les spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices mais sur milieu additionné de 1 mL de D-cyclosérine à 4 % à raison de 1 mL pour 100 mL de milieu de base.

Méthodes de référence

Norme AFNOR NF EN 26461-1 – ISO 6461-1 (juillet 1993). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia). Partie 1 : méthode par enrichissement dans un milieu liquide.

Norme AFNOR NF EN 26461-2 — ISO 6461-2 (juillet 1993). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes

anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia). Partie 2. Méthode par filtration sur membrane.

4.6 Recherche des bactériophages

Il existe au sein des bactéries des « virus » que l'on appelle bacteriophages et qui peuvent les infecter. Ils ne sont pas pathogènes pour l'homme, mais leur présence peut traduire la présence de bactéries d'origine fécale et donc une pollution. Étant donné que les bactériophages sont plus résistants à la désinfection par le chlore que les bactéries indicatrices, ils peuvent constituer un indicateur de l'efficacité de la désinfection. Enfin, pour certains auteurs, leur survie dans l'environnement ressemble à celle des virus entériques humains pouvant être transmis par l'eau, comme les entérovirus, l'hépatite A et les rotavirus. Ils constitueraient alors un indicateur de qualité de l'eau. Ils sont néanmoins plus fréquemment utilisés pour vérifier l'efficacité de traitement des filières (UV, micro ou ultrafiltration…), leurs propriétés physiques (taille principalement) les rapprochant des virus.

■ Principe

Deux types de phages sont recherchés, les coliphages (bacteriphages qui sont capable de se multiplier dans une souche *d'Escherichia coli*) et les bacteriophage ARN F spécifiques (phages à ARN capable d'infecter des cellules hôtes possédant des pili sexuels dits F). Ces derniers sont dégradés en présence de RNAse.

Les bactériophages sont détectés par addition d'une bactérie indicatrice choisie, *Escherichia coli* pour les coliphages ou *Salmonella typhimurium* pour les « phages ARN F spécifiques ». Après réplication des phages dans la culture bactérienne en milieu gélosé sur boîte de Pétri on dénombre les plages de lyse.

Nous ne présenterons ici que la méthode pour les coliformes (NF EN ISO 10705-2). Les lecteurs voulant dénombrer les phages ARN F spécifiques se rapporteront à la norme NF EN ISO 10705-1, dont le protocole est très proche.

□ Milieux de culture

– Souche d'*Escherichia coli* C (ATCC n° 13706) ou de *Salmonella typhimurium* type phagique 3.

– Gélose inclinée trypticase-soja :

peptone pancréatique de caséine (ou équivalent)	15 g
peptone de soja (ou équivalent)	5 g
chlorure de sodium	5 g
gélose	15 g
eau déionisée	1 000 mL

Le *p*H devra être de 7,3 ± 0,1 à 25 °C ; si nécessaire, l'ajuster avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 *N* ou 1 *N* ou de l'acide chlorhydrique. Faire dissoudre en chauffant et passer à l'autoclave 15 min à 121 °C. Pour la préparation des géloses inclinées, introduire 5 à 8 mL de ce mélange dans des tubes bouchés à vis avant stérilisation ; pour les boîtes de Pétri, mettre 20 à 25 mL par boîte après passage à l'autoclave et refroidissement à environ 45 °C.

– Bouillon trypticase-soja :

peptone pancréatique de caséine (ou équivalent)	17 g
peptone de soja (ou équivalent)	3 g
dextrose	2,5 g
chlorure de sodium	5 g
monohydrogénophosphate de potassium	2,5 g
eau déionisée	1 000 mL

Le *p*H devra être de 7,3 ± 0,1 à 25 °C ; si nécessaire, l'ajuster avec de l'hydroxyde de sodium ou de l'acide chlorhydrique. Chauffer et agiter jusqu'à dissolution complète. Répartir et stériliser à l'autoclave 15 min à 121 °C.

– Gélose trypticase-soja modifiée.

Ajouter aux constituants précédents, 1,6 g de nitrate d'ammonium, 0,21 g de nitrate de strontium et 15 g de gélose. Ajuster le *p*H à 7,3 ± 0,1 à 25 °C. Dissoudre à chaud. Répartir 5,5 mL dans des tubes bouchés à vis et passer à l'autoclave 15 min à 121 °C.

– Bouillon trypticase-soja additionné de 10 % (M/V) de glycérine et stérilisé 15 min à 121 °C.

– Solution de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium 1 % (M/V) dans l'éthanol. Cette solution peut être conservée une semaine.

■ Mode opératoire

Préparation et congélation de la souche hôte

Inoculer la souche indicatrice *d'E. coli* (maintenue sur gélose trypticase-soja) dans un tube contenant 10 ml de bouillon trypticase-soja glycérine. Incuber une nuit à 35 °C. Inoculer ensuite chaque tube dans une fiole conique contenant 25 mL de bouillon trypticase-soja glycériné et incuber à 35 ± 0,5 °C jusqu'à obtention d'une densité optique de 0,5 à 520 nm (ce qui correspond à environ $1 \cdot 10^{9}$ bactéries/mL). Faire le zéro du spectrophotomètre avec le même bouillon stérile.

Répartir aseptiquement 4,5 mL de suspension de cellules dans des tubes en plastique stériles, les boucher, les maintenir à 9 °C puis les congeler à – 20 °C. Ne pas conserver plus de 6 semaines au congélateur.

Dénombrement des bactériophages

Cette technique est directement applicable aux échantillons contenant plus de 5 coliphages/100 mL, si l'échantillon contient plus de 1 000 coliphages/100 mL, diluer au préalable l'échantillon au 1/10 avec de l'eau permutée.

Décongeler le tube d'*E. coli* ou de *S. typhimurium* dans un bain-marie à 44,5 °C. Employer un tube de souche indicatrice par échantillon. Ajouter à chacun des 4 tubes de 5,5 mL de gélose trypticase-soja modifiée, 1 mL de ce milieu de culture, 5 mL d'échantillon ou de dilution et 0,08 mL de solution de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium ; mélanger et maintenir à environ 45 °C.

Mélanger soigneusement et verser dans des boîtes de Pétri, couvrir et laisser gélifier. Incuber à 35 °C pendant environ 18 h les boîtes retournées. Effectuer les comptages.

■ Expression des résultats

Pour obtenir le nombre d'unités formant plages de l'échantillon, additionner le nombre de plages des quatre boîtes de Pétri et multiplier par 5 ; tenir compte des dilutions éventuelles, le résultat est en UFP/100 mL.

Remarque

L'ajout de la solution de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium permet d'accroître la transparence de la plaque.

Méthodes de référence

Norme NF EN ISO 10705-1 (octobre 2001). Qualité de l'eau – Détection et dénombrement des bactériophages – Partie 1 : Dénombrement des bactériophages ARN F spécifiques.

Norme NF EN ISO 10705-2 (octobre 2001). Qualité de l'eau – Détection et dénombrement des bactériophages – Partie 2 : Dénombrement des coliphages somatiques.

5 • BACTÉRIES SPÉCIFIQUES

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme dans tous les types d'eaux. Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme : *Campylobacter jejuni, Legionella pneumophila,* leptospires, *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella, Shigella,* staphylocoques pathogènes, *Vibrio, Yersinia enterolitica*.

Leur recherche dans les eaux n'est pas systématique. En effet, leur présence en quantité généralement faible ainsi que leurs exigences métaboliques les rendent difficiles à isoler et dénombrer. Les contrôles sanitaires portent sur des germes tests plus faciles à cultiver dont la présence témoigne en principe du risque de rencontrer ces bactéries. La réglementation, ou tout simplement l'enquête épidémiologique ou étiologique peuvent cependant conduire à effectuer la recherche spécifique de telles espèces : *a* dans les tours aeroréfrigérantes et les réseaux d'eau chaude sanitaire, en particulier dans les batiments fréquentés par les populations à risque (hôpitaux, maisons de retraite) ; également dans les eaux thermales, ainsi que les *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* et *Shigella* dans les eaux de baignades, *Staphylococcus aureus* dans les eaux de piscines.

D'autres micro-organismes peuvent être recherchés dans les eaux sans être eux-mêmes pathogènes ou sans être utilisés comme indicateurs de pollution ou d'efficacité de traitement. Les procédés de recherche et éventuellement de dénombrement de deux d'entre eux sont décrits dans ce chapitre :

– les bactéries sulfato-réductrices, qui sont incriminées dans les phénomènes de corrosion des tuyaux et sont susceptibles d'être à l'origine d'odeurs nauséabondes ;

– les actinomycètes qui peuvent provoquer des nuisances de ce dernier type.

5.1 Recherche de *Campylobacter jejuni*

Cette bactérie à gram négative est composée de plusieurs genres qui sont parfois thermotolérants. Responsable de diarrhées chez l'Homme, la maladie provoque parfois, après l'inflammation, des complications graves comme le syndrome de Guillain-Barré ou des convulsions fébriles. Cette bactérie est omniprésente dans les pâturages et les élevages. L'agent pathogène se retrouve alors souvent dans les eaux superficielles et les eaux brutes.

Cette bactérie est bien suivie dans le domaine de l'alimentation (norme NF ISO 10272 par exemple où le milieu de culture permet l'identification de cette bactérie). Mais les données sur le milieu naturel sont déficientes,

notamment en région parisienne. C'est pour répondre à cette problématique que nous proposons de caractériser les charges bactériennes en *Campylobacter* dans les eaux.

Il existe depuis peu de temps une norme environnementale par culture au niveau de l'ISO (Norme ISO 17-995). C'est une méthode semi quantitative car elle fait appel à une étape d'enrichissement. Trois volumes différents sont incubés, après filtration, dans du milieu sélectif liquide. L'étalement qui suit permet de vérifier la présence ou l'absence de bactérie ainsi que d'estimer approximativement leur concentration. Il faut faire attention aux flores interférentes et bien confirmer les colonies.

Cette norme est encore sujette à discussion dans certains pays.

Il est également possible d'effectuer une recherche dans des eaux de surface en filtrant l'échantillon sur membrane de cellulose, en déposant celle-ci sur un milieu spécifique (milieu de Skirrow) et en l'incubant en jarre anaérobie pendant 16 heures à 43 °C. La membrane peut être appliquée sur le milieu face en dessous ; après cette période de 16 heures enlever la membrane et éventuellement prolonger l'incubation pendant trois jours. Les colonies développées seront examinées après coloration de Gram. *Campylobacter jejuni* apparaît comme un petit vibrion à Gram négatif ; il possède une catalase et une oxydase ; il résiste à certains vibriostatiques comme le phosphate de 2,4-diamino-6,7-diisopropyl ptéridine.

Si la culture est prolongée, surtout sur milieu solide, *Campylobacter jejuni* dégénère et donne des formes coccoïdes qui perdent leur mobilité.

Remarques

– La formule du milieu de Skirrow est la suivante : Oxoïd BA base n° 2 – avec 5-7 % de sang de cheval hémolysé, 10 mg/L de vancomycine, 2 500 UI/L de sulfate de polymyxine B et 5 mg/L de lactate de trimethoprim.

– Ce milieu peut être remplacé par le milieu de Butzler, plus sélectif, pouvant éventuellement être utilisé à 37 °C. Il est constitué par une gélose au thioglycolate (obtenue en ajoutant 15 g par litre d'agar à un bouillon commercial à 0,5 g/L de thioglycolate de sodium) avec 10 % de sang de mouton, 25 000 UI/L de bacitracine, 5 mg/L de novobiocine, 50 mg/L de cycloheximide, 10 000 UI de colistine et 15 mg/L de cephazoline. Si l'incubation est effectuée à 37 °C, il est possible d'ajouter 400 mg/L de TTC qui permet de différencier *Campylobacter jejuni* (TTC +) de *Campylobacter fetus* (TTC –), ce dernier ne se développant pas à 43 °C.

Méthode de référence

ISO 17-995. Water quality – Detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* species. Septembre 2008.

5.2 Recherche et dénombrement des *Legionella* et de *Legionella pneumophila*

Les *Legionella* sont des germes de l'eau présents en quantités modérées dans les réservoirs naturels, mais capables de proliférer dans les réseaux

mal maîtrisés. Ils peuvent contaminer l'Homme par inhalation d'aérosols contaminés et provoquer chez certains individus une pneumopathie parfois grave (légionellose) ou une fièvre (« fièvre de Pontiac »).

Le Plan National Santé Environnement (PNSE) 2004/2008 vise à réduire de 50 % les cas de légionellose et la réglementation concerne les eaux chaudes sanitaires, les circuits de refroidissement et les tours aéroréfrigérantes. La méthode de référence pour la recherche des légionelloses dans l'eau est la méthode par culture décrite ci-dessous. Mais le résultat de cette méthode n'est obtenue qu'en 10 jours, ce qui est peu compatible avec les objectifs du contrôle industriel.

Une norme expérimentale (XP T90-471) parue en avril 2006 décrit les bases pour la détection dans l'eau de l'ADN des *Legionella* (méthode PCR). Même s'il n'existe pas de corrélation entre les résultats obtenus par culture et par PCR, la méthode PCR présente un intérêt majeur pour la surveillance des sites. Quelques étapes de cette méthode PCR doivent encore être standardisés.

Méthode par ensemencement direct ou filtration sur membrane

■ Principe

La mise en évidence de ces germes pathogènes opportunistes est effectuée sur milieu sélectif par ensemencement direct de l'eau à analyser et, après concentration de l'échantillon par filtration sur membrane en polycarbonate, par ensemencement du concentré avant et après décontamination obtenue par la chaleur ou par traitement acide. Après une incubation à 36 °C ± 1 °C pendant 3 à 10 jours, la présence de *Legionella* est confirmée par repiquage des colonies typiques pour la recherche de l'exigence en L-cystéine et celle des *Legionella pneumophila* à l'aide d'immun-sérums spécifiques.

□ Prélèvements

Lorsque l'on recherche la qualité de l'eau en amont du point de prélèvement (maîtrise du réseau), le prélèvement s'effectue après flambage et écoulement de trois minutes.

Lorsque l'on mesure le risque sanitaire posé par un point d'usage, on effectue un flambage et on prélève le premier jet.

□ Matériel spécial

– Membranes filtrantes en polycarbonate (diamètre moyen des pores : 0,45 µm).

– Lames de verre téflonnées à 8 ou 10 puits, de 8 ou 10 mm de diamètre, pour immunofluorescence.

– Microscope équipé pour la fluorescence.

– Générateur d'ultrasons.

– Lampe (UV) émettant à 360 ± 20 nm.

– Rampe à filtration.

□ Diluant et milieux de culture

– Eau.

– Tampon phosphate salé (PBS) 0,01 *M*, *p*H 7,2.

Le tampon phosphate salé est préparé à partir des deux solutions suivantes :

Solution A :

monohydrogénophosphate de sodium	1,420 g
eau déionisée	1 000 mL

Solution B :

dihydrogénophosphate de potassium	1,361 g
eau déionisée	1 000 mL

Mélanger 868 mL de la solution A et 132 mL de la solution B. Ajouter 8,5 g de chlorure de sodium. Agiter jusqu'à dissolution.

La solution tampon ainsi obtenue se compose de :

monohydrogénophosphate de sodium	1,233 g
dihydrogénophosphate de potassium	0,180 g
chlorure de sodium	8,5 g
eau déionisée	1 000 mL

– Solution tampon *p*H 2 :

solution d'acide chlorhydrique (0,2 *M*)	3,9 mL
solution de chlorure de potassium (0,2 *M*)	25 mL

Mélanger les deux solutions, ajuster le *p*H à 2 avec une solution d'hydroxyde de potassium à 48 g/L.

– Bouillon au glycérol :

bouillon nutritif	5 g
eau déionisée	170 mL
glycérol	30 mL

Répartir ce bouillon dans des fioles de 2 mL. Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min.

Milieux GVPC (glycine, vancomycine, polymyxine, cycloheximide)

– Milieu de base pour BCYE α (*buffered charcoal yeast extract* α-cétoglutarate) :

extrait de levure	10 g
charbon activé Norit A (ou SG)	1,5 à 2 g
tampon ACES (2-[(2-amino-oxoéthyl)-amino] éthanesulfonique)	5 à 10 g
α-cétoglutarate (sel de monopotassium)	1 g
solution d'hydroxyde de potassium à 48 g/L	40 mL
agar agar	12 à 17 g
eau déionisée	950 mL

Dissoudre dans 450 mL d'eau permutée additionnée de 40 mL d'hydroxyde de potassium, le mélange extrait de levure, charbon, agar. Dissoudre à part dans 500 mL d'eau le tampon ACES. Mélanger les deux solutions, ajouter l'α-cétoglutarate.

Vérifier le *p*H, l'ajuster à 6,9 ± 0,2 si nécessaire avec une solution d'hydroxyde de potassium ou d'acide chlorhydrique.

Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min.

Une altération des qualités du milieu BCYE α peut se produire au cours de la stérilisation par un chauffage prolongé ou une température trop élevée, de même une diminution de ses performances peut intervenir par des variations des composants, en particulier de l'α-cétoglutarate. Aussi, chaque nouveau lot de milieux fraîchement préparé doit être testé avec *L. pneumophila.*

– Solution de L-cystéine :

L-cystéine/chlorhydrate	0,40 g
eau déionisée	5 mL

Stériliser par filtration 0,22 µm.

– Solution de pyrophosphate ferrique :

pyrophosphate ferrique	0,25 g
eau déionisée	5 mL

Stériliser par filtration 0,22 µm.

– Solution d'antibiotiques et glycine :

polymyxine B (sulfate)	100 000 UI
vancomycine chlorhydrate	1 mg
cycloheximide	80 mg
eau déionisée	10 mL
glycine exempt d'ammonium	3 g

– Milieu complet (GVPC) avec antibiotiques :

milieu de base	990 mL
solution de L-cystéine	5 mL
solution de pyrophosphate ferrique	5 mL
solution d'antibiotiques et glycine	10 mL

Maintenir le milieu de base en surfusion en le chauffant à 50 °C environ, ajouter les solutions dans l'ordre établi ci-dessus.

Opérer stérilement pour la préparation de cette solution. Verser le milieu complet dans des boîtes de Pétri stériles sur une épaisseur de 5 mm environ. Vérifier que le *p*H est de 6,9 ± 0,1.

Laisser la solidification se faire. Conservé à 4 °C à l'obscurité, le milieu peut être utilisable pendant 10 jours maximum.

– Milieu BCYE α sans L-cystéine :

milieu de base	990 mL
solution de pyrophosphate ferrique	5 mL

Procéder comme pour le milieu complet.

– Milieu BCYE α sans antibiotique :

milieu de base	990 mL
solution de L-cystéine	5 mL
solution de pyrophosphate ferrique	5 mL

Procéder comme pour le milieu complet.

– Gélose au sang préparée à partir d'un milieu de base et de sang :

Milieu de base :

peptone trypsique de caséine	15 g
peptone papaïnique de soja	5 g
chlorure de sodium	5 g
agar	15 g
eau déionisée	100 mL

Dissoudre les composants dans l'eau bouillante. Vérifier le *p*H, l'ajuster à 7,3 ± 0,1 à 20 °C si nécessaire avec NaOH ou HCl.

Stériliser le milieu à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 min.

Sang défibriné :

Utiliser indifféremment du sang de cheval ou de mouton défibriné et stérile, vendu en ampoule scellée. Le milieu au sang est obtenu par mélange de :

milieu de base	1 000 mL
sang défibriné	5 ampoules de 10 mL

Maintenir le milieu de base en surfusion en le chauffant à 50 °C, y verser le sang, mélanger en évitant la formation de bulles par un mouvement rotatif, ample et régulier du poignet. Répartir le milieu au sang dans des boîtes de Pétri stériles sur une épaisseur de 3 mm environ. Laisser la solidification se faire. Conservé à 4 °C à l'obscurité, le milieu est utilisable pendant 8 jours maximum.

Contrôle de qualité du milieu de culture

Utiliser une ou de préférence plusieurs colonies de *Legionella* fraîchement isolées à partir d'échantillons d'eau traités selon le protocole décrit dans le mode opératoire. Préparer des suspensions en opérant de la manière suivante :

- Faire une suspension dense de cultures sur milieu BCYE α, dans du bouillon au glycérol. Répartir en fractions de 1 mL pour un stockage à – 20 °C ou à – 70 °C.
- Au moment du contrôle, sortir un ou plusieurs tubes du congélateur. Après retour à la température ambiante, agiter le tube énergiquement et ensemencer plusieurs volumes de suspension sur une boîte de Pétri contenant le milieu à tester ainsi qu'une boîte témoin du lot précédent.

Dénombrer les *Legionella*. Considérer le milieu comme acceptable lorsque les intervalles de confiance des deux mesures se chevauchent (*voir* Annexes 2.6).

– Sérums marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine : mélange de sérums anti-*Legionella pneumophila* ou de préférence sérum monoclonal, capable de réagir avec tous les sérogroupes connus de *Legionella pneumophila.*

– Souches
  - *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 (NCTC 11192 ou ATCC 33152),
  - *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 15453).

■ Mode opératoire

Mise en culture

Prendre deux boîtes du milieu GVPC complet et ensemencer l'une avec 0,2 mL d'eau à analyser, l'autre avec 0,2 mL d'une dilution au 1/10.

Parallèlement, filtrer un litre d'eau sur membrane en polycarbonate puis recueillir le résidu retenu sur la membrane,

– soit par grattage de la membrane avec 5 mL d'eau à analyser,

– soit en introduisant la membrane dans un bécher contenant 5 mL d'eau à analyser et en le plaçant en cuve à ultrasons pendant 2 min. Le niveau de la suspension dans le tube doit être inférieur au niveau d'eau de la cuve. On aura pris soin d'étalonner la cuve ultrasons avec une souche de *L. pneumophila* pour définir le meilleur temps de contact.

Ensemencer 0,1 mL de ce concentré sur une boîte de milieu gélosé. Décontaminer ensuite l'échantillon concentré restant, une partie par la chaleur, une autre partie par un traitement acide. Conserver le reste d'échantillon concentré à 4 °C pour vérification ou éventuellement analyse complémentaire.

– Traitement thermique. Introduire 2 mL d'échantillon concentré dans un tube stérile. Placer ce tube dans un bain-marie à 50 °C ± 1 °C pendant 30 min ± 1 min. Ensemencer immédiatement une boîte de milieu sélectif (milieu complet GVPC avec antibiotiques) avec 0,1 mL d'échantillon ainsi traité.

– Traitement acide. Prélever 2 mL d'échantillon concentré dans un tube stérile, centrifuger à 60 000 m/s ^{2} (g) pendant 10 min ± 1 min. Retirer 1 mL de surnageant avec une pipette stérile, agiter énergiquement le contenu du tube puis introduire 1 mL de tampon acide. La centrifugation n'est pas obligatoire, il suffit alors d'ajouter 2 mL de tampon acide à 2 mL d'échantillon concentré. Agiter doucement. Laisser en contact 5 min ± 0,5 min. Ensemencer immédiatement une boîte de milieu sélectif (milieu complet GVPC avec antibiotiques) avec 0,2 mL d'échantillon traité à l'acide. Retourner les boîtes ainsi préparées, les placer dans l'étuve de l'enceinte thermostatée à 36 °C ± 1 °C pendant 10 jours. Examiner les boîtes après 3,5 et 10 jours d'incubation.

Confirmation/identification de Legionella

Considérer comme caractéristiques les colonies présentant à la loupe binoculaire après incubation à 36 °C ± 1 °C :

– une coloration gris-bleu pouvant en vieillissant devenir blanchâtre ;

– un bord bien net et rosé ;

– un aspect de verre fritté caractéristique.

Vérifier si les colonies sont auto-fluorescentes sous lampe UV.

En vue de l'identification biochimique et sérologique, repiquer $\sqrt{n}$ colonies caractéristiques avec un minimum de 5. Si les boîtes contiennent toutes plus de 50 colonies caractéristiques, reprendre la fraction d'échantillon concentré et procéder à des dilutions supplémentaires.

Repiquer les colonies suspectes dans l'ordre suivant, sur :

– gélose BCYE α sans L-cystéine,

– gélose au sang,

– gélose BCYE α avec L-cystéine et sans antibiotiques.

Incuber à 36 °C ± 1 °C durant trois jours.

La présence de culture sur gélose au sang et/ou gélose BCYE α sans L-cystéine élimine le diagnostic de *Legionella* qui sont incapables de croître sur milieu sans cystéine.

Compter comme *Legionella* toutes les colonies Gram négatives ne cultivant que sur milieu BCYE α, éventuellement catalase positives et présentant un aspect caractéristique.

Dénombrement des Legionella pneumophila

Sont considérées comme *L. pneumophila* les colonies précédentes non auto-fluorescentes qui présentent une réaction positive en immunofluorescence en présence d'un sérum anti-*L. pneumophila*.

Se conformer aux indications du fabricant en prévoyant des témoins négatif et positif.

■ Expression des résultats

Le résultat final est calculé à partir du nombre le plus élevé des quatre dénombrements :

– Lorsque N, le nombre de colonies confirmées, est supérieur ou égal à 5 : exprimer le résultat en multipliant N par l'inverse du facteur de dilution.

– Lorsque N est inférieur à 5, ne pas rendre de résultat chiffré. Exprimer le résultat sous la forme : < 250 UFC/L, Présence.

– Au cas où aucune colonie n'a été confirmée, exprimer le résultat sous la forme : < 250 UFC/L, *Legionella* non détectée.

Méthodes de référence

NF T90-431 (septembre 2003). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement de *Legionella* spp et de *Legionella pneumophila*. Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation.

NF T90-431/A1 (avril 2006). Amendement de la NF T90-431.

XP T90-471 (avril 2006). Qualité de l'eau – Détection et qualification des *Legionelle* et/ou *Legionella pneumophila* par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne (PDR).

5.3 Recherche des leptospires

Le réservoir des leptospires est constitué par de nombreuses espèces animales : les leptospiroses constitueraient la zoonose la plus répandue. Il existe un cycle naturel constitué par les mammifères sauvages, qui peut occasionnellement s'ouvrir sur les animaux domestiques et l'homme : ce dernier est contaminé directement à partir d'animaux porteurs de leptospires, ou indirectement, et dans ce cas, le vecteur hydrique est essentiel. Il n'y a pas de contamination interhumaine. Les urines constituent la voie d'excrétion principale des animaux infectés. Bien que les manifestations pathogéniques de ces infections affectent les organes internes (foie, reins, etc.) la pénétration de l'agent infectieux ne se fait généralement pas par voie orale. La contamination à partir de l'eau peut se faire soit par voie transcutanée, le plus souvent à la faveur de lésions plus ou moins importantes, mais aussi à travers la peau saine, soit par voie muqueuse : digestive, nasale ou conjonctivale. La leptospirose constitue donc une maladie qui peut être contractée à la suite de baignades, ou de chutes accidentelles, dans de l'eau polluée, ou de contacts tels ceux résultant de la pratique de la pêche, ou du travail dans les égouts. L'eau est notamment souvent polluée par les urines de rongeurs qui y vivent. Parmi les diverses espèces de leptospires pathogènes contaminant l'homme dans ces conditions, *L. icterohemorrhagiae* constitue l'espèce principale (72 % des cas) suivie de *L. grippotyphosa* (8 % des cas) ; *L. australis, L. canicola, L. pomona* constituent les principales des autres espèces pathogènes. Il convient de remarquer que la pollution par leptospires est beaucoup moins reliée à une pollution de type fécal que celle provenant de la plupart des autres bactéries pathogènes. La recherche analytique des leptospires pathogènes est rendue délicate par la présence fréquente, voire habituelle, dans les eaux de nombreuses espèces non pathogènes. Pour différencier ces deux groupes de leptospires, le procédé le plus sûr, sinon le plus facile à mettre en œuvre, consiste à inoculer les germes à un animal d'expérience. C'est celui que nous indiquerons, en mentionnant également une phase préalable de sélection et de multiplication par culture des leptospires présents dans l'échantillon.

Principe

Les leptospires présents dans l'échantillon sont multipliés puis inoculés au cobaye. L'identification sérologique se fait après la mise en évidence du pouvoir pathogène expérimental.

Prélèvement de l'échantillon

Effectuer le prélèvement près de la berge, dans de l'eau au contact de la vase sous-jacente, préalablement remuée. Transporter immédiatement l'échantillon protégé de la lumière et conservé à basse température qui doit être agité soigneusement avant l'analyse.

Milieux de culture

– *Milieu de Stuart :*

asparagine	0,13 g
thiamine	0,020 g
NH_4Cl	0,27 g
$MgCl_2$	0,19 g
NaCl	1,93 g
Na_2HPO_4	0,66 g
KH_2PO_4	0,09 g
eau déionisée	900 mL

Ajuster le *p*H à 7,3 ± 0,1. Ajouter 10 % de sérum frais de lapin dépourvu d'anticorps au moment de l'emploi.

– Milieu de Johnson et Harris (milieu au Tween 80 modifié).

Préparer les 10 solutions étalons suivantes, numérotées de 1 à 10, contenant pour 100 mL d'eau déionisée :

n° 1	$ZnSO_4$, 7 H_2O	0,4 g
n° 2	NH_4Cl	25 g
n° 3	$CaCl_2$, 2 H_2O	1 g
n° 4	$MgCl_2$, 6 H_2O	1 g
n° 5	$FeSO_4$, 7 H_2O	0,5 g
n° 6	$CuSO_4$, 5 H_2O	0,3 g
n° 7	glycérol	10 g
n° 8	Tween 80	10 g
n° 9	thiamine	0,5 g
n° 10	vitamine B12	0,02 g

Il est inutile d'ajuster le *p*H de ces solutions.

Préparer la solution de base A en dissolvant dans 997 mL d'eau déionisée :

Na_2HPO_4	1 g
KH_2PO_4	0,3 g
NaCl	1 g

Ajouter après dissolution 1 mL de chacune des solutions n° 2, n° 9 et n° 7. Ajuster à *p*H 7,4 et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 20 min.

Préparer la solution d'albumine B en ajoutant à 100 mL d'eau déionisée :

albumine bovine, fraction V	20 g

Après dissolution, ajouter lentement, en agitant les solutions suivantes :

n° 3	2 mL

n° 4	2 mL
n° 1	2 mL
n° 6	0,2 mL
n° 5	20 mL
n° 10	2 mL
n° 8	25 mL

Ajuster le *p*H à 7,4 et le volume final à 200 mL. Stériliser par filtration.

Préparer le milieu complet en mélangeant stérilement 1 volume de la solution B et 9 volumes de la solution A.

Préparation de l'échantillon avant inoculation à l'animal

Afin d'éliminer les bactéries pathogènes qui peuvent interférer avec les leptospires pathogènes dans l'essai sur animaux, filtrer l'échantillon sur une membrane de 0,45 μm, à travers laquelle peuvent passer les leptospires.

Inoculations

Inoculer, par voie intrapéritonéale, cinq cobayes de 3 à 4 semaines avec 3 mL d'échantillon filtré et cinq autres animaux avec 3 mL d'échantillon non filtré.

Examen sérologique des animaux inoculés

Après quatre semaines, prélever le sang des animaux inoculés et déterminer sa teneur en anticorps à l'aide de cultures de 4 à 14 jours de souches connues de leptospires cultivées dans un des milieux cités. Mettre en contact dans des tubes à hémolyses ces antigènes ainsi préparés (à une concentration de l'ordre de 50 millions par mL) avec des dilutions du sérum des animaux en expérience. Les dilutions finales du sérum dans les tubes réactionnels seront par exemple de 1/10, 1/30, 1/100, 1/300, 1/1 000, 1/3 000. Maintenir les tubes au bain-marie à 30 °C pendant 3 heures, puis à la température du laboratoire pendant une heure. Examiner au microscope et admettre comme titre du sérum la plus grande dilution de celui-ci pour laquelle l'agglutination affecte plus de 50 % des cellules bactériennes.

Recherche des leptospires dans les organes des animaux inoculés

Du tissu rénal de cobaye inoculé sacrifié après quatre semaines est broyé dans du milieu de Stuart enrichi de sérum. Procéder à des dilutions de 10^{-1} à 10^{-5}. Dans des tubes contenant environ 9 mL de milieu de Stuart ou de Johnson et Harris inoculer 3 gouttes des dilutions précédentes. Incuber à l'obscurité pendant deux mois. Toutes les deux semaines examiner les cultures au microscope à fond noir. En cas de présence, rechercher le caractère pathogène, soit en inoculant les cultures au cobaye, soit en ensemençant un milieu de Stuart sans sérum : dans ce dernier cas, seuls les leptospires non pathogènes cultivent. On peut également tester les leptospires isolés sur les milieux de culture contre des antisérums de référence par une réaction de séroagglutination.

Expression des résultats

On considèrera qu'il y a présence de leptospires pathogènes dans le volume d'échantillon analysé si les cobayes inoculés ont un taux d'anti-

corps supérieur à 100 et si les leptospires pathogènes sont présentes dans les milieux inoculés avec les tissus rénaux des cobayes d'expérience.

Les souches isolées de leptospires peuvent être envoyées à un laboratoire de référence pour étude sérologique et confirmation.

5.4 Recherche et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*

Les mêmes méthodes de dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* pourront être utilisées aussi bien pour les eaux minérales et les eaux d'alimentation que pour les eaux de piscine. Dans ce dernier cas, il conviendra de prêter attention :

– à n'utiliser comme matériel de prélèvements que des flacons dans lesquels sera introduite avant leur stérilisation une quantité suffisante de thiosulfate de sodium pour neutraliser le chlore résiduel (l'addition de 0,5 mL d'une solution à 10 % dans un flacon de 500 mL permet la neutralisation d'une concentration de 15 mg/L de chlore) ;

– à effectuer les prélèvements aux heures et dans les zones où l'affluence des baigneurs est la plus grande. Prélever notamment de préférence dans le film d'eau superficiel.

Méthode par filtration sur membrane

■ Principe

Un milieu sélectif, spécifique de la culture de *Pseudomonas aeruginosa*, est ensemencé en surface. Les colonies sont dénombrées directement et éventuellement confirmées par subcultures sur milieux d'identification.

□ Milieux de culture

Milieux d'inoculation

– Milieu à la cétrimide et à l'acide nalidixique :

peptone		20 g
chlorure de magnésium		3 g
sulfate de potassium		10 g
monohydrogénophosphate de potassium		0,3 g
cétrimide (bromure de tétradonium)		0,2 g
acide nalidixique		0,015 g
gélose		12 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre en chauffant les composants. Ajuster si nécessaire le *p*H de façon à ce qu'il soit à 7,1 après stérilisation. Répartir en flacons de 100 ou 150 mL. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes.

Ce milieu est commercialisé « prêt à l'emploi ».

Pour son utilisation, faire fondre le milieu au bain-marie bouillant, puis le couler en boîtes de Pétri stériles.

Milieux utilisés pour l'identification

– Milieu de King A :

peptone trypsique de gélatine	20 g
sulfate de potassium anhydre	10 g
chlorure de magnésium anhydre	1,4 g
glycérol	10 mL
gélose	15 g
eau déionisée	1 000 mL

Faire dissoudre dans l'eau les peptones et les sels en s'aidant de la chaleur. Ajouter le glycérol. Ajuster le *p*H à 7,2. Stériliser 20 minutes à 121 °C après répartition en tubes (20 mL par tube) ou en flacons (100 mL).

Mode opératoire

Diagnostic présomption

Filtrer selon les indications données au chapitre B-3.1, « Méthode générale d'examen bactériologique de l'eau », une quantité convenable d'échantillon (eau de piscine : 100 mL ; eau thermale : 250 mL, etc.). Déposer la membrane à la surface d'une gélose à la cétrimide et à l'acide nalidixique. Incuber à 36 °C pendant 48 heures ; effectuer une première lecture après 24 heures d'incubation. À ce moment les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* ont un diamètre de 1,5 à 2 mm, un contour circulaire, une surface lisse et brillante, une couleur blanc crème, un aspect muqueux et sont parfois déjà accompagnées d'une production de pigment bleu-vert qui commence à diffuser : fluorescence sous UV.

Confirmation de Pseudomonas aeruginosa

Il est possible de procéder aux recherches suivantes :

– un examen microscopique après coloration de Gram. Il permet de s'assurer que les colonies ne contiennent que des bacilles à Gram négatif, non sporulés ;

– un examen direct entre lame et lamelle. Il permet de constater la mobilité des germes de type polaire ;

– une recherche de la pyocyanine, pigment bleu, soluble dans le chloroforme caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa.* Il est mis en évidence à partir des colonies développées sur la membrane, en ensemençant sur milieu de King A qui exalte sa production, à 30 °C, jusqu'à l'apparition d'une coloration verdâtre. Ajouter alors 2 mL de chloroforme. Agiter. La pyocyanine communique au chloroforme une teinte bleue.

– une recherche de la Nitrate reductase sur bouillon à l'acétamide. Incubation de 18 heures à 37 °C +/– 1 °C. Ajout de réactif de Nessler (présence de nitrites). Développement d'un précipité rouge brique : *Pseudomonas Aeruginosa*.

Remarque

Si l'échantillon est supposé contenir beaucoup de *Pseudomonas aeruginosa* (plus de 100 par mL), remplacer la filtration sur membrane par un étalement en surface, sur une boîte de 100 mm de diamètre, de 0,1 mL d'échantillon déposé à la surface, sur le milieu. Dans ce cas l'étalement des colonies est beaucoup plus rapide et il est plus difficile d'obtenir directement des colonies isolées en vue d'un repiquage éventuel pour confirmation.

Méthodes de référence

NF EN ISO 16266 (août 2008). Qualité de l'eau – Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* – Méthode par filtration ur membrane.

NF T90-421 (août 2006). Qualité de l'eau – Examens bactériologiques des eaux de piscines.

5.5 Recherche des *Salmonella*

Les salmonelles sont en général considérées comme pathogènes bien que leur virulence et leur pathogénèse varient énormément : fièvres typhoïdes, salmonelloses systémiques, gastro-entérites, toxi-infections alimentaires. Les hôtes naturels des salmonelles sont la population humaine, les animaux domestiques, les volailles et le bétail ainsi que les animaux sauvages, y compris les oiseaux communs. Humains et animaux peuvent éliminer dans les selles des salmonelles non seulement en cas de maladie mais aussi en tant que porteurs asymptomatiques. Les salmonelles peuvent donc être présentes dans l'eau des égouts agricoles et domestiques, les eaux douces, y compris les eaux potables et les nappes phréatiques, ainsi que l'eau de mer.

■ Principe

Un très grand nombre de méthodes de recherche sur divers types de milieux sont disponibles. La recherche dans l'eau doit habituellement inclure une phase de pré-enrichissement, de sélection puis de confirmation.

La méthode de recherche de ces micro-organismes découle de deux données : d'une part leur présence en nombre relativement faible dans les eaux ainsi que leur difficulté d'y survivre ; d'autre part l'existence habituelle d'un nombre important de germes d'accompagnement, d'origine fécale (coliformes, streptocoques) ou non (*Pseudomonas, Achromobacter,* etc.). Ces germes, plus nombreux, entrent en compétition avec les salmonelles éventuellement présentes qui sont alors inhibées. Ces constatations entraînent l'obligation d'utiliser des milieux d'enrichissements sélectifs, dans le but d'inhiber le développement des autres bactéries.

Les manipulations de prélèvement et de préparation de l'échantillon présentent un intérêt particulier en raison du volume important généralement nécessaire à l'analyse : ce n'est que dans le cas d'eaux usées que la prise d'essai pourra être inférieure à 1 litre, le volume exact dépendant de l'origine de l'effluent. Pour une eau de surface, le volume nécessaire devrait être de 1 à 5 litres et pour une eau destinée à l'alimentation, il est de 5 litres. Il peut être parfois souhaitable d'associer à l'examen d'un échantillon prélevé directement, celui d'un prélèvement avec concentration, selon la méthode de Moore ou la méthode de prélèvement au robinet de distribution (E.2.3).

Si le volume d'échantillon à analyser au laboratoire est supérieur à plusieurs centaines de mL, il y a intérêt à procéder à une concentration de germes selon les modalités indiquées au chapitre E.3.1, afin de limiter la quantité de milieux à ensemencer. Parmi ces modalités, la filtration sur membrane est la méthode de choix pour les eaux suffisamment claires. La centrifugation peut être utile pour les eaux usées riches en matières en

suspension ou les boues.

Pour la recherche de la *S. typhi*, qui n'est généralement pas importante pour le contrôle de la qualité de l'eau mais qui peut être rendue nécessaire dans des circonstances particulières, utiliser un milieu à la cystine sélénite (disponible également sous forme de milieu complet déshydraté auprès de différents fabricants) et incuber à 35 ± 1 °C ou 37 ± 1 °C pendant une période allant jusqu'à 24 h. Par rapport à certaines situations épidémiologiques particulières, il peut être nécessaire d'ajouter d'autres milieux.

☐ Milieux de culture et réactifs

Il est recommandé d'utiliser pour la préparation des milieux, des composants de base déshydratés ou des milieux complets déshydratés, en suivant pour la préparation les prescriptions des fabricants.

- *Milieu de pré-enrichissement*

– Eau peptonée tamponnée :

		Concentration simple	Concentration double
peptone		10 g	20 g
chlorure de sodium		5 g	10 g
monohydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4 , 12 H_2O)		9 g	18 g
dihydrogénophosphate de potassium		1,5 g	3 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL	1 000 mL

Dissoudre tous les composants dans l'eau par élévation de la température (sans porter à ébullition).

Ajuster le *p*H à 7,2 ± 0,1, soit avec une solution d'hydroxyde de sodium, soit avec de l'acide chlorhydrique.

Répartir dans des bouteilles ou des tubes de culture, stériliser à l'autoclave à 121 ± 1 °C pendant 15 minutes.

Conserver au réfrigérateur pendant une période allant jusqu'à 3 mois.

- *Milieux d'enrichissement*

– Vert malachite-chlorure de magnésium (milieu de Rappaport-Vasiliadis modifié)

Milieu de base :

peptone, provenant de viande		4 g
peptone, provenant de graines de soja		1 g
chlorure de sodium (NaCl)		8 g
monohydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4 , 3 H_2O)		0,4 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		0,6 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Supplément 1 :

chlorure de magnésium ($MgCl_2$, 6 H_2O)		31,7 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Supplément 2 :

vert malachite		0,4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre tous les composants du milieu de base dans l'eau par élévation de la température (sans porter à ébullition).

Ajouter la solution préparée de chlorure de magnésium (supplément 1) et 10 mL de solution au vert malachite (supplément 2) au milieu de base.

Ajuster le *p*H à 5,2 ± 0,1 avec une solution d'hydroxyde de sodium ou avec de l'acide chlorhydrique.

Répartir dans des tubes de culture à raison d'environ 10 mL par tube. Passer à l'autoclave à 121 ± 1 °C pendant 15 minutes.

– Bouillon cystine-sélénite :

peptone pancréatique de caséine		5 g
lactose		4 g
monohydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4 , 12 H_2O)		10 g
cystine L		0,01 g
monohydrogénosélénite de sodium		4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre les trois premiers ingrédients dans l'eau en portant à l'ébullition. Après refroidissement ajouter le monohydrogénosélénite de sodium.

Ajuster le *p*H à 7,0 ± 0,2.

Répartir le milieu dans les tubes de 20 mm × 200 mm à raison de 20 mL par tube, ou des volumes différents appropriés à la prise d'essai par chauffage en vapeurs fluentes pendant 30 min.

Ce milieu existe commercialement sous forme déshydratée.

Ne pas autoclaver, procéder à une filtration stérilisante.

– Bouillon au tétrathionate (Muller et Kauffmann) :

Milieu de base :

extrait de viande		5 g
peptone pancréatique de caséine		10 g
chlorure de sodium		3 g
carbonate de calcium		45 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Mélanger l'eau, l'extrait de viande, la peptone, le chlorure de sodium, le carbonate de calcium ; porter à l'ébullition. Ajuster le *p*H de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,0 à 20 °C. Stériliser pendant 20 minutes à 121 °C.

Solution de thiosulfate de sodium :

thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$, 5 H_2O)		50 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre le thiosulfate de sodium dans une partie de l'eau. Compléter au volume final. Stériliser la solution pendant 20 minutes à 121 °C.

Solution d'iode :

iode		20 g
iodure de potassium		25 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre l'iodure de potassium dans un petit volume d'eau et ajouter l'iode. Agiter jusqu'à dissolution complète. Compléter au volume final. Conserver la solution dans un récipient opaque parfaitement fermé.

Solution de vert brillant :

vert brillant		0,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Conserver la solution au moins une journée à l'obscurité afin de provoquer l'auto-stérilisation.

Solution de bile de bœuf :

bile de bœuf désséchée		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre la bile de bœuf désséchée dans l'eau en portant à l'ébullition. Stériliser la solution pendant 20 minutes à 121 °C.

Milieu complet :

milieu de base	900 mL
solution de thiosulfate de sodium	100 mL
solution d'iode	20 mL
solution de vert brillant	2 mL
solution de bile de bœuf	50 mL

Ajouter au milieu de base les composants dans l'ordre ci-dessus en opérant de façon stérile. Bien mélanger les liquides après chaque addition.

Transvaser stérilement le milieu complet dans des tubes stériles à raison de 20 mL par tube de 20 × 200 ou des volumes différents dans des récipients de contenance appropriée à la prise d'essai d'échantillon. Conserver à 4 °C à l'obscurité et utiliser dans la semaine suivant la préparation.

- *Milieu d'isolement sélectifs gélosés*

L'obtention de bons résultats avec ces milieux dépend souvent de la qualité de leur préparation. D'une façon générale il faut éviter les chauffages excessifs lors de l'emploi des milieux déshydratés, il suffit en général de quelques minutes d'ébullition pour assurer la dissolution avant de refroidir. La mesure de la quantité d'eau permutée à employer doit être faite après ébullition et refroidissement. En effet lorsque la mesure est effectuée avant ce traitement, l'évaporation entraîne une perte d'eau et la concentration du milieu n'est plus respectée, ce qui provoque une inhibition anormale des cultures.

– Gélose *Salmonella-Shigella* (SS) :

peptone pancréatique de caséine		10 g
extrait de viande		5 g
lactose		10 g
sels bilaires		6 g
citrate de sodium		8,5 g
citrate de fer ammoniacal		1 g
thiosulfate de sodium		8,5 g
rouge neutre		0,025 g
vert brillant		0,00033 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre la peptone et l'extrait de viande dans l'eau déionisée à chaud. Après dissolution, ajouter les autres ingrédients. Porter lentement à l'ébullition tout en agitant. Répartir en flacons de volume adapté à l'utilisation. Stériliser ceux-ci par chauffage de 30 minutes à 100 °C. Ne pas utiliser d'autoclave.

Si un produit déshydraté est utilisé, homogénéiser la poudre dans la quantité d'eau nécessaire, et porter lentement à l'ébullition tout en agitant. Laisser refroidir jusqu'à 50 °C. Couler en boîtes de Pétri.

– Gélose lactosée au vert brillant et au rouge de phénol (Milieux d'Edel et Kampelmacher).

Milieu de base :

extrait de viande de bœuf déshydraté	4 g
peptone pancréatique de caséine	10 g

chlorure de sodium		3 g
monohydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4)		0,8 g
dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4)		0,6 g
agar-agar en poudre ou en paillettes		15 g
eau déionisée	*q.s.p.*	900 mL

Dissoudre les ingrédients ou le milieu de base déshydraté complet dans l'eau, en opérant à l'ébullition. Ajuster le *p*H, de sorte qu'après stérilisation il soit de 6,9. Répartir le milieu de base dans des flacons de taille appropriée de capacité maximale de 500 mL. Stériliser le milieu de base pendant 15 min à 121 °C.

Solution de sucres au rouge de phénol :

lactose		10 g
saccharose		10 g
rouge de phénol		0,09 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre les ingrédients dans l'eau et stériliser par filtration.

Solution de vert brillant :

Pour la composition et la préparation de cette solution, voir le bouillon au tétrathionate (milieu de Muller-Kauffmann).

Milieu complet :

milieu de base	900 mL
solution de sucres au rouge de phénol	100 mL
solution de vert brillant	1 mL

En opérant de façon stérile ajouter au milieu de base refroidi à 50-55 °C, la solution de vert brillant et la solution de sucres au rouge de phénol. Mélanger et répartir le milieu complet dans un nombre approprié de grandes boîtes de Pétri stériles à raison de 40 mL environ par boîte ou, à défaut, dans de petites boîtes à raison de 20 mL environ par boîte. Laisser se solidifier sur une surface horizontale et fraîche. Faire sécher soigneusement à l'étuve immédiatement avant l'emploi. Si elles ont été préparées à l'avance, les boîtes de gélose non séchées ne doivent pas être conservées plus de 4 h à la température du laboratoire ou plus d'un jour au réfrigérateur.

Ce milieu existe commercialement sous forme déshydratée.

– Gélose d'Hektoen :

peptone pepsique de viande	12 g
extrait de levure	3 g
sels bilaires	9 g
lactose	12 g
saccharose	12 g
salicine	2 g
chlorure de sodium	5 g
hyposulfite de sodium	5 g
citrate de fer ammoniacal	1,5 g
bleu de bromothymol	0,064 g
fushine acide	0,040 g
gélose	15 g

Dissoudre les ingrédients ou le milieu de base déshydraté complet dans l'eau, en agitant fréquemment, et en chauffant. Lorsque l'ébullition est atteinte, la maintenir une minute, ne pas autoclaver. Refroidir le milieu aux environs de 45-50 °C et couler en boîtes de Pétri.

Ce milieu existe commercialement sous forme déshydratée.

– Gélose au sulfite de bismuth (milieu de Wilson Blair).

Ce milieu est spécialement recommandé pour la recherche de *Salmonella typhi.*

peptone	10 g
extrait de viande de bœuf	5 g
glucose	5 g
monohydrogénophosphate de sodium	4 g
sulfate ferreux	0,3 g
sulfite de bismuth	8 g
vert brillant	0,025 g
gélose	15 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Ce milieu est difficile à préparer ; il est préférable d'utiliser une présentation commerciale déshydratée correspondant à cette formule ou à une formule voisine. Une formule est spécialement adaptée pour membrane filtrante (Bacto-m-Bismuth Sulfite Broth).

Préparer ce milieu, à partir du milieu déshydraté selon les indications données pour la gélose d'Hektoen : éviter tout chauffage excessif ; ne pas autoclaver.

Les boîtes après leur préparation doivent être conservées au moins 4 jours à + 4 °C avant leur utilisation, car le milieu se révélerait inhibiteur vis-à-vis de certaines *Salmonella*, telles *S. typhi-murium.*

– Gélose au désoxycholate xylosée et lysinée :

xylose D (+)	3,5 g
lysine L (+)	5 g
désoxycholate de sodium	2,5 g
extrait de levure	3 g
saccharose	7,5 g
lactose	7,5 g
chlorure de sodium	5 g
thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$)	6,8 g
citrate de fer ammoniacal (III)	0,8 g
solution de rouge de phénol à 8 ‰	10 mL
gélose	environ 13 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Dissoudre tous les composants, y compris 10 mL de solution au rouge de phénol, par élévation de la température presque jusqu'au point d'ébullition ; le *p*H doit être ajusté à 7,4 ± 0,1.

Attention à ne pas surchauffer, donc ne pas préparer de portions supérieures à 1 L en une fois ; ne pas passer le milieu à l'autoclave. Immédiatement après, transférer dans un bain-marie de 50 °C et verser dans des boîtes de Pétri dès que le milieu a refroidi.

• *Milieux pour l'identification :*

– Gélose nutritive ordinaire :

extrait de viande de bœuf déshydraté	3 g
peptone pancréatique de caséine	5 g
chlorure de sodium	5 g
agar-agar en poudre ou en paillettes	15 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Dissoudre dans l'eau les composants ou le milieu complet déshydraté, en portant à ébullition.

Si nécessaire, ajuster le *p*H de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,0. Répartir le milieu dans des tubes de 16 mm × 160 mm, à raison de 4 à 5 mL par tube. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 20 min et laisser refroidir les tubes en position inclinée.

– Milieu de Kligler (lactose-glucose-H_2S) :

extrait de viande de bœuf	3 g
extrait de levure	3 g
peptone pancréatique de caséine	20 g
chlorure de sodium	5 g
lactose	10 g
glucose	1 g
sulfate ferreux ammoniacal	0,5 g
thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$, 5 H_2O)	0,5 g
rouge de phénol	0,025 g
gélose	12 à 18 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Dissoudre les composants dans l'eau à l'ébullition. Ajuster le *p*H à 7,4. Répartir le milieu dans des tubes de 16 mm × 160 mm, à raison de 5 à 8 mL par tube. Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 20 min. Laisser refroidir les tubes en position inclinée de façon à obtenir un culot de 2,5 cm de profondeur.

– Milieu de Ferguson

L-tryptophane	3 g
monohydrogénophosphate de potassium	1 g
dihydrophosphate de potassium	1 g
chlorure de sodium	5 g
urée	20 g
alcool à 95°	10 mL
rouge de phénol	0,025 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 000 mL

Après dissolution des ingrédients, stériliser le milieu par filtration et répartir à raison de 1 mL par ampoule. Au moment de l'emploi, transvaser le contenu de l'ampoule dans un ou plusieurs petits tubes stériles (tubes à hémolyse par exemple) ; avec une ampoule, faire 4 tubes qui serviront à étudier chacun une colonie différente.

- *Sérums agglutinants anti-salmonella.*

– Sérums polyvalents anti-O : sérums contenant des agglutinines actives vis-à-vis des antigènes somatiques O.

– Sérum anti-Vi : sérum contenant des agglutinines actives vis-à-vis de l'antigène Vi.

– Sérum physiologique à 8,5 pour 1 000 mL.

Dissoudre le chlorure de sodium dans l'eau. Répartir la solution en tubes à raison d'environ 10 mL par tube. Stériliser pendant 20 min à 121 °C ± 1 °C.

■ Mode opératoire

La recherche des *salmonella* comporte plusieurs étapes :

– préenrichissement : ensemencement d'un milieu liquide non sélectif avec l'échantillon à analyser, puis incubation à 37 °C ;

– enrichissement : ensemencement de deux milieux liquides sélectifs à partir du bouillon de préenrichissement puis incubation à 37 °C ou 42-43 °C ;

– isolement : ensemencement de deux milieux sélectifs solides à partir des bouillons d'enrichissement puis incubation à 37 °C ;

– identification des colonies présumées à l'aide de tests biochimiques ou sérologiques.

Préenrichissement

Ajouter l'échantillon à un volume égal d'eau peptonée tamponnée (double concentration) ou filtrer sur membrane dans 50 mL d'eau peptonée tamponée (simple concentration).

Pour des volumes d'échantillon de 10 mL ou moins, utiliser de l'eau peptonée tamponnée (simple concentration) avec des volumes 10 fois plus grands, minimum de 50 mL du volume final.

Incuber les bouillons ensemencés à 37 °C pendant 16 heures au moins et 20 heures au plus.

Enrichissement

Utiliser simultanément deux milieux de culture, par exemple, parmi ceux cités dans cet ouvrage, le milieu cystine-sélénite ou Rappaport-Vasiliadis et le bouillon au tétrathionate.

Introduire 1 mL du milieu de préenrichissement dans deux tubes de 20 mL, de milieu d'enrichissement correspondant aux deux formules choisies. Incuber à 37 ± 1 °C pendant 48 heures.

Alternativement, on peut effectuer un préenrichissement-enrichissement direct : dans un flacon contenant du milieu déshydraté, reprendre celui-ci directement avec une quantité correspondante d'eau brute. Agiter aussitôt pour homogénéiser le plus possible la poudre dans l'échantillon : la dissolution complète ne s'effectue généralement qu'au début de l'incubation. Surveiller à ce moment la dissolution, la faciliter au besoin par agitation.

La reconstitution du milieu de culture à partir du produit déshydraté et de l'échantillon peut être pratiquée au lieu même du prélèvement, l'eau étant introduite directement dans le flacon contenant le milieu déshydraté.

Incuber à 42 °C ± 0,5 °C, 18 à 24 h. Cette température est préférée par de nombreux auteurs car elle limite le développement des micro-organismes non pathogènes ; cependant elle constitue un obstacle à la multiplication de quelques sérotypes. Il peut être recommandé d'incuber à 42-43 °C, l'enrichissement sur milieu au sélénite et à 37 °C, le deuxième enrichissement sur un autre milieu.

Isolement

À partir de chacun des deux bouillons d'enrichissement, effectuer des isolements sur 2 milieux sélectifs différents.

Les géloses d'isolement sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. Au bout de 24 heures il est souvent possible de différencier les colonies à lactose positif et au bout de 36 à 48 heures, toutes les colonies ont généralement leurs aspects caractéristiques.

Selon le milieu d'isolement choisi, ces aspects sont les suivants :

– Sur gélose *Salmonella-Shigella* :

- des colonies rouges : *Enterobacter, Klebsiella* et autres coliformes tels *Escherichia coli* ;

• des colonies incolores à centre noir : *Salmonella* à H_2S^+, *Proteus vulgaris* et *mirabilis* ;

• des colonies incolores transparentes : *Salmonella* à H_2S^-, *Shigella, Serratia, E. Hafniae, Alkalescens, Proteus morganii* ;

• des colonies à centre orangé : *Proteus rettgeri, Providencia* ;

• des colonies rouges à centre noir : *Citrobacter freundii* (en réalité seul le centre noir est visible d'où confusion avec *Salmonella*), *Arizona* (même remarque).

– Sur gélose lactosée au vert brillant et rouge de phénol :

• des colonies roses, presque blanches (entourées d'une zone rouge) : *Salmonella* ;

• des colonies verdâtres (entourées d'une zone brillante jaune verdâtre) : germes fermentant le lactose ou le saccharose.

– Sur gélose d'Hektoen :

• des colonies jaune saumon : *E. coli, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Arizona* ;

• des colonies jaune saumon à centre noir : *Citrobacter freundii, Proteus vulgaris* ;

• des colonies bleues ou vertes à centre noir : *Proteus mirabilis, Salmonella* ;

• des colonies bleuâtres ou vertes : *Shigella, Providentia, Proteus morganii, Proteus rettgeri, Salmonella* à H_2S négatif.

En outre : les *Pseudomonas* donnent de petites colonies bleu brunâtre, avec éventuellement un centre noir (*P. putrefaciens*). Le vibrion cholérique donne des colonies jaune rosé.

Sur cette gélose, particulièrement favorable au développement des *Shigella*, l'inhibition porte essentiellement sur *E. coli* et dans une moindre mesure sur les *Proteus* et les *Citrobacter.* Le vibrion cholérique y pousse bien.

– Sur gélose au sulfite de bismuth :

• des colonies transparentes à centre noir et à reflet métallique, après 48 heures : *Salmonella typhi* ;

• des colonies noires et à reflet métallique parfois en 48 heures : autres *Salmonella* à H_2S telles que *S. enteritidis, S. derby, S. Schottmuelleri*, etc.

• des colonies vertes : autres *Salmonella* telles que *S. gallinarum, S. choleraesuis, S. paratyphi.*

Ce milieu est particulièrement indiqué pour *S. typhi.* Les *Shigella* sont généralement plus ou moins inhibées, certaines cependant y donnent des colonies brunâtres, ou marrons. Les coliformes sont très inhibés ; cependant quelques-uns peuvent donner des colonies vertes de même que quelques *Proteus* peuvent donner des colonies noires. Ce milieu doit toujours être utilisé en même temps qu'une autre gélose d'isolement moins sélective.

Identification

Tout type de colonies dont l'aspect est caractéristique ou douteux doit être soumis à une confirmation. En effet la reconnaissance des colonies

de *Salmonella* est en grande partie une question d'expérience et leur aspect peut parfois varier non seulement en fonction des souches isolées, mais également en fonction des lots de milieu de culture utilisés.

– Inoculation d'un milieu de Kligler et d'une gélose nutritive :

Choisir les colonies typiques ou suspectes sur les géloses d'isolement. Repiquer environ 5 colonies de chaque type, sur milieu de Kligler et sur gélose nutritive ordinaire. Ces milieux permettront de vérifier la pureté des colonies et de fournir les quantités de culture nécessaires pour l'identification biochimique et sérologique.

Ensemencer le milieu de Kligler par piqûre du culot et par strie longitudinale sur la pente sans revisser le bouchon. Ensemencer la gélose nutritive en stries. Incuber à 37 °C pendant 24 heures. Le culot du milieu de Kligler doit alors être jaune (fermentation du glucose) et la pente rouge (absence de fermentation du lactose). Un noircissement partiel ou total (gênant parfois les lectures tardives) témoigne de la formation d'hydrogène sulfuré ; l'apparition de bulles dans le culot montre la formation de gaz à partir du glucose. Pratiquer sur la culture une recherche de l'oxydase qui doit être négative, et un étalement sur lame pour coloration de Gram et vérification de la pureté de la colonie repiquée.

– Recherche de l'uréase :

Ensemencer abondamment un milieu de Ferguson à partir de la culture sur milieu de Kligler. Incuber durant 24 heures à 37 °C.

La présence d'uréase se traduit par une coloration rouge : l'uréase présente chez les bactéries utilisant l'urée comme source d'azote, provoque la formation de carbonate d'ammoniaque qui alcalinise le milieu et produit le rougissement du rouge de phénol. Éliminer les colonies uréases + (*Proteus*).

– Interprétation des résultats obtenus :

Avec la plus grande partie des diverses espèces de *Salmonella*, les résultats suivants seront obtenus, les quelques exceptions étant indiquées dans les ouvrages spécialisés :

recherche de la fermentation du glucose	+
recherche de l'utilisation du lactose	–
recherche de la production d'hydrogène sulfuré	+
recherche de l'uréase	–
recherche de la tryptophane désaminase	–
recherche de l'indol	–
recherche de la lysine décarboxylase	+
recherche de la mobilité	+

– Identification sérologique :

À partir de la colonie pure repiquée sur gélose nutritive, s'assurer que la souche n'est pas auto-agglutinable, puis mettre en évidence des antigènes O et éventuellement des antigènes Vi.

Élimination des souches auto-agglutinables

– Déposer sur une lame parfaitement propre une goutte d'eau salée.

– Prélever à l'aide d'une anse de platine une parcelle de culture de 24 h sur milieu gélosé. La déposer près de la goutte et en faire une suspension en y incorporant progressivement l'eau salée.

– Imprimer à la lame un mouvement oscillatoire pendant 30 à 60 s.

– Observer le résultat sur fond noir de préférence à l'aide d'un miroir concave.

– Une souche est considérée comme auto-agglutinable si l'on observe la présence d'amas plus ou moins distincts.

– La confirmation de ces souches auto-agglutinables est impossible par les méthodes ci-dessous.

Mise en évidence des antigènes O

Utiliser la culture sur gélose de la souche à étudier, non auto-agglutinable.

Opérer selon la technique décrite ci-dessus en utilisant les sérums polyvalents anti O au lieu du diluant.

Mise en évidence de l'antigène Vi

N'effectuer cette recherche que dans le cas où les antigènes O n'ont pu être décelés.

Opérer comme ci-dessus, mais en utilisant une goutte de sérum anti-Vi au lieu de sérum anti-O.

S'il y a agglutination les réactions sont considérées comme positives.

Interprétation des agglutinations

Si la souche n'est pas auto-agglutinable, mais est agglutinée par l'un des sérums polyvalents utilisés, considérer que le diagnostic de *Salmonella* est confirmé sérologiquement.

Si la souche n'est pas agglutinée par l'un des sérums O utilisés, il peut s'agir d'une souche rendue O inagglutinable par un antigène Vi. Si dans ce cas l'agglutination Vi est positive, considérer que le diagnostic de *Salmonella* est également confirmé.

Une réponse négative (absence d'agglutination dans les deux réactions pratiquées) indique soit qu'il ne s'agit pas d'une *Salmonella*, soit qu'il s'agit d'une *Salmonella* appartenant à un groupe non couvert par les sérums polyvalents utilisés ; on devra l'envoyer à un centre spécialisé. La poursuite du diagnostic sérologique à l'aide des sérums O monovalents et des sérums H dépasse le cadre de cet ouvrage. Il peut être effectué par les laboratoires médicaux compétents ou par un centre agréé pour l'identification des *Salmonella.*

■ Interprétation et expression des résultats

Lorsque les réactions biochimiques et sérologiques sont l'une et l'autre positives, conclure à la « présence » de *Salmonella* dans l'échantillon analysé.

Lorsque l'une et l'autre sont négatives, conclure à l'« absence » de *Salmonella*.

Lorsque la réaction sérologique est négative ou incertaine, envoyer la souche à un centre agréé pour l'identification des *Salmonella.*

Formuler la réponse : présence ou absence de *Salmonella* dans… (le volume d'eau analysé).

Remarques

– Le milieu d'isolement sur gélose *Salmonella-Shigella* inhibe totalement la croissance des bactéries à Gram positif et partiellement celle de nombreux coliformes et *Proteus*. L'aspect typique n'est parfois obtenu qu'après 48 heures d'incubation, mais après 24 heures il est possible de différencier sans difficulté les colonies à lactose + (roses) et à lactose – (incolores) : un examen à ce moment permet certaines orientations qui deviennent difficiles lorsque la coloration noire due à H_2S se développe.

– Le dispositif industriel « API SYSTEM » permet l'étude de 20 caractères biochimiques d'entérobactérie et peut remplacer les méthodes classiques conventionnelles d'identification. D'autres permettent une identification plus complète sur 32 caractères.

Méthodes de référence

NF EN ISO 6579 (décembre 2002). Microbiologie des éléments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6579/A1 (octobre 2007). Microbiologie des éléments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp – Amendement 1 : annexe D.

Algeria-Educ.com/forum

5.6 Recherche des staphylocoques pathogènes

C'est surtout dans les eaux destinées à la baignade, et particulièrement dans les eaux de piscine que la recherche de ces staphylocoques présente un intérêt pratique.

■ Principe

Après concentration des échantillons par filtration sur membrane de cellulose à 0,45 µm, celle-ci est déposée sur un milieu sélectif pour bactéries tolérant de hautes concentrations en NaCl, tel le milieu de Chapman au mannitol. Les colonies présentant l'aspect de *Staphylococcus aureus* sont soumises alors aux essais de « pathogénicité », coagulase et éventuellement désoxyribonucléase et phosphatase.

□ Milieux de culture et réactifs

– Milieu de Chapman au mannitol :

peptone		10 g
extrait de viande		1 g
chlorure de sodium		75 g
mannitol		10 g
agar		15 g
rouge de phénol		0,025 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Le *p*H doit être égal à 7,6. Dissoudre complètement par chauffage. Répartir (15 mL) dans des tubes de 160 × 16 mm ou en flacons de 100 mL. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C. Au moment de l'emploi, faire fondre en portant à l'ébullition, laisser refroidir à 50 °C. Couler en boîtes de Pétri de 60 mm.

Ce milieu est délivré commercialement sous forme déshydratée, ou prêt à l'emploi.

– Bouillon pour épreuve de la staphylocoagulase :

digestion papaïque de viande de bœuf	500 mL
hydrolysat de gélatine	20 mL
citrate trisodique	3 g
eau déionisée	480 mL

Ce milieu est délivré commercialement prêt à l'emploi.

Il peut être remplacé par du bouillon ordinaire dont on a vérifié qu'il ne coagule pas le plasma oxalaté.

– Plasma de lapin.

Il est préférable d'employer des plasma commercialisés sous forme d'ampoules ou flacons à réhydrater dans de l'eau permutée ou du solvant selon les indications du fabricant. Une fois dissous, le plasma doit être conservé au réfrigérateur pendant 48 heures au maximum.

Mode opératoire

Ensemencement et lecture du milieu de Chapman

Après filtration de la prise d'essai, appliquer la membrane sur la gélose. Incuber à 37 °C durant 24 heures ou, si besoin est, durant 48 heures. Les souches de *Staphylococcus aureus* sont de taille importante et élaborent leur propre pigment ; elles apparaissent en jaune, surmontant une zone jaune du milieu sous la membrane, par suite de la fermentation du mannitol. D'autres espèces de staphylocoques peuvent donner naissance à de petites colonies qui le plus souvent ne se colorent pas et ne modifient pas la teinte du milieu. Certaines souches cependant fermentent le mannitol et, certaines autres bactéries, en particulier les *Bacillus* – ou des *Corynebacterium* – peuvent se développer sur ce milieu.

Confirmation et essai de « pathogénicité »

Les colonies suspectes, ou si elles sont très nombreuses, pourront être confirmées par :

– un examen microscopique après coloration de Gram ;

– un test à la catalase qui doit être positif ;

– un repiquage sur un bouillon pour épreuve à la staphylocoagulase (ou un bouillon nutritif ordinaire).

Incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Faire la recherche de la coagulase, en mélangeant dans un tube à hémolyse stérile 0,5 mL de plasma dissout et 0,5 mL de la culture en bouillon de la souche à étudier. Mettre à incuber à 37 °C. Une coagulation rapide, en moins de trois heures, et massive (le tube peut être retourné) survient généralement pour les souches de *Staphylococcus* pathogènes. Une coagulation plus tardive (avant la 24e heure cependant) et plus légère doit cependant être considérée comme positive.

Conclure : présence (ou absence) de *Staphylococcus* pathogènes. Si toutes les colonies ont subi des essais, ou tout au moins un nombre corres-

pondant à la racine carrée des colonies suspectes sur la membrane, il est possible de rendre un résultat quantitatif.

En cas de nécessité, une identification biochimique sur galerie API permettra l'identification de l'espèce.

Méthode de référence

Norme XP-T 90-412 (juin 2006). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des staphylocoques pathogènes – Méthode par filtration sur membrane.

5.7 Recherche du vibrion cholérique et des *Vibrio*

Dans les pays où le choléra a pratiquement disparu, il est rare que la recherche du vibrion cholérique dans les eaux d'alimentation présente un intérêt. Par contre, quand une épidémie risque de se propager par suite de la présence de malades ou de porteurs de germes en provenance de l'étranger, il est utile de procéder à des contrôles dans les eaux d'égouts souillées par les selles de ces malades, éventuellement dans les eaux de surface qui les recueillent et, le cas échéant, dans les eaux de toilette, la glace, les eaux usées des avions transportant des voyageurs suspects.

La recherche de vibrions halophiles (eaux conchylicoles, ou aquaculture) procède de la même méthodologie :

V. parahemolyticus, V. anguillarum, V. alginolyticus, V. cholerae non-01, etc.

■ Principe

Après enrichissement par passage en milieu hypersalé, et après isolement d'une part sur un milieu non sélectif, d'autre part sur un milieu sélectif, l'identification est basée essentiellement sur des épreuves immunologiques.

□ Milieux de culture

– Milieu de transport pour vibrion cholérique :

acide borique		3,100	g
chlorure de potassium		3,720	g
hydroxyde de sodium (pastilles)		1,500	g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000	mL

Ajuster à *p*H 9,2. Répartir dans des flacons de 150 mL (50 mL) ou de 30 mL (10 mL).

Ce milieu existe commercialement prêt à l'emploi.

– Milieu d'enrichissement pour la recherche du vibrion cholérique :

peptone		30	g
chlorure de sodium		30	g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000	mL

Dissoudre. Ajuster le *p*H à 8,6. Répartir dans des tubes de 160 × 60 mm (10 mL) ou dans des flacons de 150 mL (50 mL). Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C.

Ce milieu existe commercialement prêt à l'emploi.

– Gélose nutritive à *p*H 9 :

peptone		10	g
extrait de viande		4	g
chlorure de sodium		5	g
agar		13	g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000	mL

Dissoudre et ajuster le *p*H à 9. Répartir (15 mL) dans des tubes de 160 × 16 mm. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C.

Ce milieu existe commercialement prêt à l'emploi.

– Gélose aux sels biliaires pour isolement du vibrion cholérique (TCBS) :

peptone		10	g
extrait de levure		5	g
citrate de sodium		10	g
thiosulfate de sodium		10	g
chlorure de sodium		10	g
bile de bœuf		50	mL
acide désoxycholique		0,300	g
citrate de fer ammoniacal		1	g
bleu de bromothymol		0,040	g
thymol sulfone phtaléine		0,040	g
hydrosulfite de sodium		0,100	g
gélose		13	g
saccharose		20	g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000	mL

Dissoudre. Ajuster le *p*H à 8,6. Répartir (15 mL) dans des tubes de 160 × 16 mm. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 121 °C.

Ce milieu existe commercialement prêt à l'emploi.

■ Mode opératoire

L'échantillon doit être inoculé le plus rapidement possible après son prélèvement dans le milieu d'enrichissement, le délai ne devant, en aucun cas, dépasser 24 heures. Si ces conditions ne peuvent être respectées, recueillir l'échantillon dans un milieu de transport.

Le plus souvent, il s'agit de traiter ainsi de l'eau d'égouts domestiques, dans une zone d'épidémie, ou du liquide de fosse septique ou de toilettes chimiques d'avions ou de cars de grand tourisme.

Prélever alors 10 mL environ de ces liquides et les introduire dans des flacons de 150 mL contenant 50 mL de milieu de transport.

Pour la conservation de quantités plus importantes d'échantillons, utiliser un milieu de composition modifiée de façon que la concentration finale soit respectée (préparer, par exemple, un milieu à double concentration saline destiné à être ajouté au même volume d'eau à analyser).

La conservation de ce milieu est de plusieurs semaines. Il est conseillé, pour des examens importants, de se prémunir contre d'éventuelles contestations en disposant une partie de l'échantillon dans ce milieu et en incubant en même temps le milieu d'enrichissement.

Concentration

Si l'eau à analyser est susceptible d'être très polluée (cas des eaux usées, riches en matières fécales de cholériques), la concentration est non seulement inutile mais éventuellement nuisible.

Dans les eaux supposées peu polluées, procéder à une concentration de germes (*voir* B-3.1).

Enrichissement

Il est recommandé d'ensemencer en même temps un échantillon d'eau brute et un échantillon d'eau concentrée. L'enrichissement est basé sur les propriétés du vibrion cholérique : développement rapide en aérobiose stricte. Après concentration, placer les membranes dans des flacons de 150 mL contenant 50 mL de milieu d'enrichissement pour vibrion cholérique. En l'absence de concentration, ajouter 1 ou 2 mL de l'eau usée à analyser dans un tube de 10 ou 20 mL de milieu d'enrichissement. Incuber ces tubes ou flacons à 37 °C durant 3 heures. Prélever en surface et ensemencer un nouveau milieu d'enrichissement. Incuber à 37 °C durant 3 heures.

Il est utile de procéder à un troisième ensemencement de même type si les possibilités d'horaire le permettent, mais il est de toute façon indispensable que toutes ces manipulations, jusqu'à l'ensemencement sur milieu d'isolement, soient effectuées sans interruption.

Isolement

Prélever *à la surface* du dernier milieu d'enrichissement :

– une öse bouclée pour ensemencer, en vue d'isolement, une boîte de gélose à *p*H 9 ;

– une öse bouclée pour ensemencer de la même façon une boîte de gélose TCBS.

Incuber ces boîtes à 37 °C jusqu'à apparition de fines colonies (18 à 24 heures).

L'ensemencement des deux géloses est impératif.

La gélose à *p*H 9 est moins inhibitrice que la gélose aux sels biliaires pour l'isolement du vibrion cholérique.

Identification

Les colonies de vibrion sont fines, blanches sur la gélose à *p*H 9, jaunâtres sur la gélose sélective (TCBS). L'identification est faite sur des colonies provenant de l'une et de l'autre de ces boîtes. Pour chacun de ces prélèvements faire :

– un examen microscopique entre lame et lamelle pour examiner la morphologie des bactéries : forme incurvée, flagelle polaire unique ;

– un examen microscopique après coloration de Gram ;

– une recherche de l'oxydase ;

– une galerie d'identification biochimique (API).

Effectuer la confirmation par des épreuves d'agglutination, pratiquées à l'aide de sérums agglutinants, présentés commercialement sous forme lyophilisée ou liquide, polyvalents (choléra) ou monovalents (Inaba-Ogawa). La souche isolée doit être envoyée au Centre national de typage des vibrions, Institut Pasteur, Paris (15 ^{e}).

5.8 Recherche de *Yersinia enterolitica*

L'importance de *Yersinia enterolitica* dans la pathologie gastro-intestinale a été soulignée par l'OMS. Parmi les cinq biotypes et les quelques 35 sérotypes de cette espèce, seuls certains d'entre eux sont pathogènes pour l'homme, alors que d'autres sont rencontrés chez divers animaux ou dans le milieu naturel : terres, eaux.

Il y a une vingtaine d'années, une série d'épizooties chez des rongeurs (chinchilla) puis chez des bovins ou des porcins, attira l'attention sur ce germe en Europe ; son rôle dans la pathologie humaine s'accrut quelques années plus tard, notamment dans le nord du continent. Si l'origine alimentaire de nombreux troubles gastro-intestinaux dus à *Yersinia enterolitica* est indéniable, le rôle direct de l'eau de boisson est beaucoup plus difficile à mettre en évidence. De nombreuses souches furent isolées dans les eaux, notamment dans des eaux destinées à la consommation humaine, depuis les premières études à ce sujet de Lansen en 1972. Un certain nombre de publications donnent à penser que des épidémies de gastro-entérites à *Yersinia enterolitica* pourraient être d'origine hydrique.

■ Principe

Les diverses méthodes proposées pour rechercher *Yersinia enterolitica* dans les eaux dérivent des techniques d'isolement de ce germe dans les selles, souvent pratiquées en microbiologie médicale.

■ Mode opératoire

Prétraitement d'enrichissement ou de sélection

Dans des cas exceptionnels, une prépondérance de *Yersinia enterolitica* dans la flore bactérienne autorise un ensemencement direct sur milieu d'isolement, éventuellement après filtration sur membrane si cette flore est globalement en faible concentration. Mais le plus souvent il est nécessaire d'enrichir la prise d'essai en *Yersinia enterolitica*, surtout quand la flore et notamment la flore fécale est abondante. Pour cela il est possible d'utiliser la propriété de cette espèce de survivre et même de se multiplier à basse température, dans une eau même pauvre en sels minéraux et matières organiques. Par ailleurs *Yersinia* pousse bien en anaérobiose. Il est donc conseillé :

– soit de conserver l'échantillon (notamment s'il s'agit d'eau d'alimentation) au réfrigérateur à + 4 °C, pendant plusieurs jours ;

– soit d'inoculer l'échantillon dans de l'eau peptonée (*voir* p. 783) utilisée comme milieu d'enrichissement et de maintenir le mélange à cette température de + 4 °C. À intervalle périodique, tous les deux ou trois jours par exemple, il convient de repiquer sur milieu d'isolement. Le mélange peut également être couvert d'huile de vaseline stérile.

Isolement

Sont utilisés le plus souvent comme milieux d'isolement ceux réservés aux *Enterobacteriaceae.*

Il peut être conseillé un milieu lactosé, type Mac Conkey (peptone : 20 g ; sels biliaires : 1,5 g ; chlorure de sodium : 5 g ; lactose : 10 g ; rouge neutre :

0,03 g ; cristal violet : 0,001 g ; agar : 15 g ; eau déionisée *q.s.p.* 1 L ; ajuster à *p*H 7,1) en incubant 24 h à 37 °C puis 24 h à température ambiante. On distinguera *Yersinia enterolitica* des coliformes, car le lactose n'est pas fermenté par cette espèce en 48 heures, s'il peut l'être en 6 ou 7 jours, voire plusieurs semaines.

Il est possible de favoriser la croissance des *Yersinia enterolitica* par rapport aux autres genres des *Enterobacteriaceae* ou d'autres familles, abondants dans les eaux, en utilisant leur croissance préférentielle à des températures peu élevées, et leur possibilité de survivre, et même de se multiplier, dans des milieux très pauvres et en anaérobiose. Ces propriétés sont mises à profit, soit :

– en incubant à des températures relativement basses, par exemple à 25 °C (certains proposent d'autres températures s'échelonnant de 25 à 29 °C). L'ensemencement est fait à partir des échantillons, ayant ou non subi le prétraitement, en stries ou après filtration sur membrane ;

– en incubant en anaérobiose, aux températures précédentes, dans une jarre, ce qui permet l'élimination de nombreuses bactéries aérobies strictes présentes dans les eaux ;

– en incubant, après filtration, une membrane simplement déposée dans une boîte contenant un peu d'eau permutée, à 25 °C. Cette « culture » n'est pas pratiquée isolément mais simultanément avec les deux procédés précédents et utilisation d'une gélose d'isolement choisie parmi celles déjà citées ;

– en diluant l'échantillon au 1/2 dans une solution d'hydroxyde de potassium 0,25 % préalablement à l'ensemencement ou la filtration.

Identification

Les colonies se développant sur les milieux d'isolement, directement ou sur membranes, et qui après une incubation de 48 heures sont suspectées d'appartenir à l'espèce *Yersinia enterolitica*, seront identifiées par ensemencement sur galeries (API 20 E).

Parmi les caractères principaux qui aideront au diagnostic, citons essentiellement, outre les caractères généraux des *Enterobacteriaceae* (fermentation du glucose, absence d'oxydase, etc.) : la non-fermentation du lactose en 48 heures, la présence de galactosidase (ONPG positive), la présence d'uréase très active, l'absence de phénylalanine désaminase et de tryptophane désaminase. Un caractère important est l'étude de la mobilité, sur milieux mannitol Mobilité, aux deux températures de 25° et 37 °C, *Yersinia enterolitica* est immobile à 37° et mobile à 25 °C.

L'identification pourra être complétée par la détermination du sérotype par agglutination sur lame, les sérotypes 3 et 9 étant les plus répandus en Europe. Il est possible pour cela de s'adresser à des centres spécialisés tels l'unité d'Écologie bactérienne de l'Institut Pasteur de Paris.

5.9 Recherche des bactéries sulfato-réductrices (vibrions sulfato-réducteurs)

Les bactéries sulfato-réductrices sont généralement rencontrées dans le sol, les eaux saumâtres et les eaux douces : eaux de puits, de rivières et lacs. Elles le sont parfois dans les eaux traitées distribuées pour l'alimentation ou pour l'industrie. Elles sont décelées dans les dépôts prélevés dans des canalisations métalliques (fer, fonte, acier, etc.) ou dans des échangeurs de chaleur (réfrigérants en circuit fermé). Leur présence est liée à une consommation de matières organiques et leur prolifération entraîne la formation de gaz malodorants, hydrogène sulfuré par exemple.

Leur découverte au niveau de matériaux corrodés fait penser que ces micro-organismes interviennent dans la corrosion des métaux en liaison avec les bactéries oxydantes du soufre et les bactéries ferrugineuses.

5.9.1 Méthode de dénombrement sur milieux solides

■ Principe

Dans un milieu adapté à l'action des bactéries sulfato-réductrices et contenant du sulfate ferreux, celui-ci est réduit en sulfure de fer, dont la coloration noire témoigne de la présence de ces bactéries.

□ Milieux réactifs

– Milieu E de Postgate :

dihydrogénophosphate de potassium		0,5 g
chlorure d'ammonium		1,0 g
sulfate de sodium anhydre		1,0 g
chlorure de calcium ($CaCl_2$, 6 H_2O)		1,0 g
chlorure de magnésium ($MgCl_2$, 7 H_2O)		2,0 g
lactate de sodium		3,5 g
extrait de levure		1,0 g
agar agar		15,0 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre les sels dans l'eau déionisée. Ajuster éventuellement le *p*H de façon à ce qu'il soit de 7,6 après stérilisation. Répartir dans des tubes à essai de 160 × 16 mm à raison de 10 mL par tube. Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 20 minutes.

Au moment de l'emploi faire fondre le milieu, le régénérer au bain-marie bouillant pendant 20 à 30 minutes. Laisser refroidir à 45-60 °C et ajouter stérilement à chaque tube 0,1 mL de chacune des trois solutions suivantes :

solution de sulfate de fer à 5 %

solution d'acide ascorbique à 1 %

solution d'acide thioglycolique à 1 %.

Chacune de ces solutions, stérilisée par filtration après sa préparation, peut être conservée 1 mois au réfrigérateur.

– Milieu de l'American Petroleum Institute (milieu API) :

lactate de sodium	4,0 g

extrait de levure	1,0 g
acide ascorbique	0,1 g
sulfate de magnésium	0,2 g
monohydrogénophosphate de potassium	0,01 g
sulfate ferreux et d'ammonium	0,2 g
chlorure de sodium	10,0 g
resazurine sodique	0,001 g
gélose	12,0 g

Introduire les composants dans un litre d'eau et chauffer progressivement en agitant fréquemment pour les dissoudre. Ajuster éventuellement le *p*H de façon à ce qu'il soit de 7,3 après stérilisation. Répartir dans des tubes à essai de 160 × 16 mm à raison de 10 mL par tube, stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Ce milieu est commercialisé sous forme déshydratée.

■ Mode opératoire

Ensemencer les milieux de la façon suivante :

– soit par incorporation de 1 mL de l'échantillon pur ou des différentes dilutions obtenues à partir de l'échantillon dans le milieu réparti en tubes, liquéfié et refroidi à 45 °C ;

– soit par incorporation de 1 mL de l'échantillon ou des différentes dilutions obtenues à partir de l'échantillon, dans le milieu liquéfié, refroidi à 45 °C et coulé en boîte de Pétri.

Incuber à la température de 28-30 °C pendant 15 jours.

Rechercher et dénombrer à partir du troisième jour, l'apparition des colonies noires.

> **Remarque**
> L'anaérobiose peut être obtenue en plaçant tubes et boîtes de Pétri en jarre pour anaérobiose.

5.9.2 Méthode par ensemencement en milieux liquides

■ Principe

Dans un milieu synthétique adapté à l'action des bactéries sulfato-réductrices et contenant des sulfates, l'addition de fer, sous forme de sulfate ferreux ou simplement de fer métallique (clou), permet l'obtention de sulfure qui provoque un noircissement caractéristique du milieu.

□ Milieux de culture

– Milieu pour la recherche de germes sulfato-réducteurs :

chlorure d'ammonium	1 g
monohydrogénophosphate de potassium	0,5 g
sulfate de magnésium	2,0 g
sulfate de sodium	0,5 g
chlorure de calcium	0,1 g

lactate de sodium en solution à 60 %		6	mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000	mL

Dissoudre les produits et stériliser à l'autoclave à 110 °C pendant 20 minutes. Répartir dans des tubes de 160 × 16 mm à raison de 5 à 10 mL par tube. Au moment de l'emploi, régénérer le produit pendant 20 à 30 minutes au bain-marie bouillant. Refroidir à 45-50 °C. Introduire dans chaque tube un clou passé dans la flamme d'un bec Bunsen et laisser refroidir quelques secondes.

– Milieu B de Postgate :

dihydrophosphate de potassium		0,5	g
chlorure d'ammonium		1,0	g
chlorure de calcium ($CaCl_2$, 6 H_2O)		1,0	g
sulfate de magnésium ($MgSO_4$, 7 H_2O)		2,0	g
lactate de sodium, solution à 60 %		5,8	mL
extrait de levure		1,0	g
acide ascorbique		1,0	g
sulfate de fer ($FeSO_4$, 7 H_2O)		0,5	g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000	mL

Dissoudre les composants dans l'eau permutée. Ajuster éventuellement le *p*H de façon à ce qu'après stérilisation, il soit de 7,6. Répartir en tubes de 160 × 16 mm, à raison de 10 mL par tube. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Au moment de l'emploi, régénérer le milieu pendant 20 à 30 minutes au bain-marie bouillant ; refroidir à 45-50 °C et ajouter stérilement à chaque tube 0,1 mL de solution d'acide thioglycolique à 1 %. Cette solution, stérilisée par filtration après préparation, peut être conservée au réfrigérateur durant 1 mois.

■ Mode opératoire

Choisir un système d'ensemencement et les dilutions correspondantes à la précision désirée et à la densité bactérienne probable de l'échantillon à analyser (*voir* B-3.3). Introduire les prises d'essai dans les tubes du milieu choisi préalablement désaérés, si nécessaire, par un séjour de 20 à 30 minutes au bain-marie bouillant. Compléter éventuellement l'anaérobiose en recouvrant la surface du milieu par une couche d'huile de paraffine stérile, ou en plaçant les tubes dans une jarre pour anaérobiose. Incuber à 28/30 °C pendant 15 jours. Rechercher et noter, à partir du troisième jour, l'apparition soit d'un enduit noir de sulfure de fer entourant le clou, soit d'un précipité noir de sulfure de fer. Compter pour chaque dilution, le nombre de tubes positifs et en déduire le nombre de germes sulfato-réducteurs, à partir des tables du nombre le plus probable.

5.10 Recherche et dénombrement des actinomycètes

Parmi les micro-organismes qui peuvent donner à l'eau potable un goût et une odeur désagréables, les actinomycètes ont souvent été citées. Elles peuvent en effet produire de la Geosmine.

Principe

Après une préparation adaptée à la nature et à l'origine de l'échantillon, l'ensemencement de celui-ci en surface sur un milieu sélectif permet le dénombrement des colonies après plusieurs semaines d'incubation.

Milieu de culture

– Milieu d'Olson :

caséinate de sodium		2 g
asparagine		0,1 g
propionate de sodium		4,0 g
monohydrophosphate de potassium		0,5 g
sulfate de magnésium		0,1 g
sulfate ferreux		0,001 g
gélose		15,0 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Ce milieu est commercialisé par Difco sous forme déshydratée.

Réhydrater 22 g dans 1 000 mL d'eau permutée, chauffer ; ajouter 5 grammes de glycérol, stériliser 15 minutes à 121 °C. Ajuster à *p*H 8,1. Incorporer 40 µg d'actidione par mL ; couler en boîtes de Pétri.

Mode opératoire

Préparation de l'échantillon

– Décontamination : Le procédé est recommandé dans les cas des eaux polluées ; chauffer un volume de 200 mL d'eau dans un bain-marie à 44 °C pendant 1 heure, laisser refroidir. Traiter par 0,4 mL de solution stérile de chlorure d'ammonium à 0,38 % et par 2 mL d'une solution d'hypochlorite titrant 200 mg/L de chlore. Laisser reposer 10 minutes ; ajouter 0,1 mL d'une solution stérile de thiosulfate de sodium à 3 % pour neutraliser le chlore.

– Concentration par filtration : Le procédé est recommandé pour les eaux peu polluées ; filtrer un volume de 200 mL d'eau (traitée ou non) sur membrane filtrante (0,45 µm). Placer la membrane dans un récipient contenant des billes de verre et 10 mL de solution de Ringer (*) diluée au 1/4. Agiter fortement à l'aide d'un Vortex pendant 5 minutes.

– Homogénéisation : Le procédé est recommandé pour les sédiments. Diluer 1 à 2 grammes de sédiments dans 20 mL de solution de Ringer dilué au 1/4 dans un flacon contenant des billes de verre ; agiter le flacon à l'aide d'un Vortex pendant 5 minutes ; traiter le liquide obtenu par les ultra-sons pendant 60 minutes.

Ensemencement, incubation, lecture

Préparer à partir de l'échantillon des dilutions de 10 en 10 jusqu'à 10^{-5}. Ensemencer 1 mL d'eau brute ou diluée à la surface du milieu. Les boîtes ouvertes sont mises à l'étuve à 44 °C pendant 30 à 45 minutes, puis incuber à 28 °C pendant 3 semaines. Il faut régulièrement observer les boîtes.

(*) Préparation de la solution de Ringer : NaCl : 6,5 g ; KCl : 0,25 g ; $NaHCO_3$: 0,20 g ; $CaCl_2$: 0,30 g ; eau permutée *q.s.p.* 1 L.

Les colonies d'actinomycètes ont un diamètre de 1 à 4 mm, un aspect compact, lisse ou rugueux, quelquefois poudreux ; leur contour est arrondi ou dentelé. Elles sont souvent pigmentées en jaune, rose-violet, gris noir. Elles adhèrent fortement au milieu et ne sont pas envahissantes. L'examen microscopique révèle un réseau dense de filaments fins entourant ces colonies. Cet aspect les différencie d'une part des champignons dont les filaments sont plus grands et d'autre part des bactéries qui n'ont pas de filaments.

6 • ANALYSE VIRALE

6.1 Détection des virus dans l'eau

La détection des virus dans les milieux hydriques environnementaux se heurte principalement à deux problématiques complexes :

– Une fois excrétées dans le milieu hydrique, les particules virales se retrouvent diluées et donc en faible concentration. Le plus souvent ces particules sont associées aux matières en suspensions, qui peuvent selon leurs tailles et les courants hydriques décanter. La mise en évidence des particules virales dans ces différents milieux devra donc impérativement tenir compte de cette faible concentration. C'est pourquoi il est nécessaire de procéder à une concentration de l'échantillon. Cette étape doit être adaptée à la matrice à analyser (eaux de surface ou sédiments).

– Il faut utiliser une technique de mise en évidence des particules virales appropriée aux virus recherchés. En effet il existe un grand nombre de virus différents susceptibles d'être pathogènes pour l'homme (Entérovirus, norovirus, virus hépatiques…). De plus dans le milieu hydrique, les virus sont soumis à l'action de différents facteurs naturels physiques (température, rayonnement ultra-violet, adsorption…), chimiques (pH, force ionique…), biologiques (micro-organismes, métabolites microbiens…) qui pourront accélérer ou diminuer l'inactivation des particules virales mais également interférer avec la méthode de détection.

À ce jour, il n'existe pas de méthodologie universelle de détection des virus alliant, à la fois, rapidité, grande sensibilité, mise en évidence du pouvoir infectieux, et permettant d'analyser toutes les matrices hydriques (eaux de surface, de ruissellement ou bien des eaux chargées en sédiments…)

■ Principe de la concentration

Cette étape a pour objectif d'obtenir sous un faible volume tous les virus présents dans l'échantillon à analyser. Pour les eaux de surface plusieurs méthodologies ont été employées pour détecter les virus. Il s'agit essentiellement de méthodes basées sur des principes de précipitation (Markwell et Shortridge 1982) ou adsorption-élution (Sarette *et al.* 1977, Block *et al.* 1978, Vilagines *et al.* 1979). Parmi ces différentes méthodes, les techniques de concentration par adsorption-élution semblent les mieux adaptées à l'analyse de grands volumes d'eaux. Elles permettent en effet de concentrer les particules virales présentes dans 20 à 1 000 litres d'eau sous un volume final d'une centaine de millilitres. Initialement ces techniques ont été spécifiquement développées pour détecter les virus entériques, mais sont applicable à d'autres types de virus. De très nombreuses données scientifiques (rendements de concentration, abattements viraux, etc.) acquise depuis plus de 30 ans ont permis de faire évoluer cette technique.

Le principe des techniques d'adsorption-élution repose sur la possibilité de faire interagir l'enveloppe des virus et les supports, puis de les décrocher en faisant varier leurs propriétés de surface. En effet, la composition chimique des supports, la structures, les conditions de force ionique, le pH, la présence de matière organique ou de protéines, jouent un rôle fondamental dans l'interaction entre les particules virales et le support. Il existe toute une gamme de supports tels que des membranes, des cartouches filtrantes, ainsi que des carters de laine de verre… Ces différents supports présentent des charges de surfaces pouvant être soit négatives, soit positives, soit mixtes…

L'utilisation de supports électronégatifs est limitée car il est nécessaire d'acidifier le volume d'eau à concentrer, limitant le volume analysé. De plus cette acidification peut provoquer l'inactivation de certaines souches virales.

À l'inverse l'emploi de méthodes fondées sur l'adsorption des virus sur des supports chargés positivement ou sur des supports à charge mixtes à des pH voisins de la neutralité, ne nécessitent pas de traiter au préalable l'échantillon et leur mise en œuvre est simple. Il existe de nombreux supports pouvant être employés (membrane et filtre Zeta, membrane cellulose de type MDS, cartouche de laine de verre sodocalcique…). Ce type de support a été largement utilisé pour la détection de ces virus dans divers milieux hydriques.

Enfin à titre d'information, il existe la technique d'ultrafiltration tangentielle qui est un procédé de séparation des particules en fonction de leurs poids moléculaires au travers de membranes spécialement adaptées à cet usage.

À l'issue de cette première concentration, les volumes obtenus sont souvent encore trop importants (quelques centaines de mL) pour être directement analysés. On procède alors, à une deuxième concentration dite secondaire de façon à récupérer les virus sous un volume encore plus faible (quelques millilitres). Le plus souvent, cette seconde concentration est basée sur le principe de précipitation, soit par acidification du concentrat primaire, soit par addition de divers agents chimiques, principalement le polyéthylène glycol (PEG). Des techniques d'ultracentrifugation peuvent également être employées.

Dans le cas particulier des virus associés à des matières en suspension ou à des boues il est nécessaire au préalable de séparer les virus adsorbés avant concentration.

■ Principe de la détection

Pour détecter les virus, après la concentration, il est important d'utiliser une technique spécifique au virus recherché, afin de mettre en évidence le faible nombre de particules virales. Nous présenterons ici deux alternatives pour la détection :

– méthodes par culture de cellule (méthode normalisée) ;

– méthodes par Biologie moléculaire.

Ces dernières, plus récentes, sont applicables à la recherche des virus dans l'eau. Elles permettent de détecter directement le génome des virus

après amplification. Des méthodes en cours de développement proposent également de coupler les deux méthodes et détecter le génome après multiplication au sein de lignées cellulaires (ICC-rtPCR, voir AFSSA 2007).

Isolement sur cultures cellulaires

Il s'agit d'une technique permettant de détecter les virions après multiplication au sein de cellule en culture qui lysent après infection. Cette méthode constitue la seule technique sensible, spécifique et quantitative permettant de témoigner du caractère infectieux des virus isolés. La maintenance de lignées cellulaires nécessite d'avoir un personnel spécialisé. L'analyse d'échantillons environnementaux concentrés pose le problème de la contamination microbiologique (bactéries et *champignons* entre autres). La détection est ici dépendante du type de cellule utilisé.

Détection par Biologie moléculaire

Les techniques moléculaires de détection basées sur la rétrotranscription de l'ARN viral et son amplification en chaîne (rtPCR) sont également adaptées à la mise en évidence du génome des virus dans des échantillons hydriques environnementaux. À ce jour de nombreux protocoles ont été mis au point par différents auteurs (Da Silva AK *et al.* 2007, Rutjes *et al.* 2006…). Une étape préalable d'extraction génomique est indispensable. De nombreux systèmes rapides existent à ce jour et peuvent être employés après évaluation de leurs performances. Cette méthodologie est très rapide (résultats en 3 heures), sensible et spécifique mais elle ne permet pas d'identifier le risque infectieux. Il n'est donc pas toujours possible de lier détection de génome viral et présence du virus **infectieux**. Par contre la présence de génome viral peut être considérée comme un indicateur d'une pollution virale. Il faut également noter que le risque de faux positif est plus élevé avec cette méthode, qu'il convient de bien maîtriser au sein du laboratoire.

Autres techniques : Integrated Cell Cultur-RTPCR (ICC-RTPCR) Séquençages…

D'autres techniques ne seront pas présentées ici, mais il faut noter qu'elles sont utilisées dans le cadre de programme de recherches. Par exemple on peut détecter le génome viral après culture cellulaire. La multiplication ayant permis une multiplication des particules virales. Il est également possible de réaliser un séquençage de tout ou partie du génome après l'amplification afin de caractériser le genre et l'espèce du virus identifié.

Domaine d'application

Toutes les techniques décrites ici sont applicables aux eaux potables, eaux de surfaces, potentiellement aux boues, comme présenté dans le dernier chapitre…

Le choix de la méthode de concentration et de détection doit se faire en fonction du type de matrice, du matériel disponible et des capacités du laboratoire.

6.1.1 Méthode de concentration sur laine de verre

La méthode de concentration sur laine de verre permet de concentrer directement les virus sans traitement préalable de l'échantillon. L'appareillage, constitué de cartouches en acier inoxydable, peut être utilisé aussi bien sur le terrain qu'au laboratoire. Cependant, il existe un risque de colmatage pour des eaux turbides. Cette méthode offre en outre la possibilité de réaliser un contrôle en continu par branchement direct à un robinet (méthode de P. Vilagines *et al.,* 1988).

■ Principe

Le verre, de nature sodo-calcique, présentant des charges électrostatiques et hydrophobes, la fixation des entérovirus est théoriquement totale de pH 3 à pH 9, sans modification de l'échantillon à analyser. L'adsorption est spontanée, et s'effectue par l'interaction des ions présents dans l'eau et des charges électrostatiques et hydrophobes présentes à la surface des virus. La concentration des virus s'effectue par passage de l'échantillon d'eau à travers un filtre de laine de verre comprimé dans une cartouche en acier inoxydable.

■ Prélèvement

Prélever l'échantillon soit par concentration *in situ,* par branchement sur un robinet, soit dans des récipients stériles.

Pour le prélèvement « in situ »

En cas de concentration *in situ,* brancher directement la cartouche contenant la laine de verre. Un débitmètre et un compteur permettent de fixer le débit et le volume d'eau à analyser. Dans le cas des eaux de boisson supposées traitées au chlore, neutraliser celui-ci par une injection en continu d'une solution de thiosulfate ou par la mise en place en amont du filtre de laine de verre, d'une cartouche contenant un produit éliminant le chlore comme l'Hydro-Chlorex dont 10 g assure la neutralisation de 100 L d'eau contenant 0,4 g/L de chlore.

La concentration *in situ* terminée, fermer la cartouche contenant l'eau à ses deux extrémités puis la placer dans de la glace pour le transport. Dans ces conditions, les virus sont toujours détectables 36 heures après la concentration. Cependant, dans le cadre des contrôles courants, effectuer l'élution dans les 2 à 3 heures qui suivent la concentration.

Pour le prélèvement en récipients stériles

Prélever l'échantillon d'eau en prenant le maximum de précaution d'asepsie dans des récipients stériles de 10 à 25 litres : bonbonnes en matière plastique stérilisées par l'ozone ou l'oxyde d'éthylène, ou récipients en PVC stérilisés à l'autoclave à 110 °C pendant 30 min.

En présence d'eau supposée chlorée, introduire dans le récipient du thiosulfate de sodium à raison de 70 mg par litre d'eau prélevée.

Faire parvenir les récipients le plus rapidement possible au laboratoire, à la température de l'échantillon, dans un délai inférieur à 24 heures.

☐ **Matériel spécial**

– Support d'adsorption : utiliser de la laine de verre ensimé de nature sodo-calcique (*).

– Carters de filtration : utiliser un carter étanche, en acier inoxydable, carters commercialisés : interne (42 mm (**)).

– Pompe péristaltique.

– pH-mètre.

– Débitmètre.

– Tuyaux stérilisables.

– Raccords plastiques ou métal (type raccord rapide) stérilisables.

– Agitateur magnétique.

– Flaconnage stérile (50 mL à 1000 mL), pipettes stériles (5 mL et 10 mL).

– Verrerie courante de laboratoire.

☐ **Réactifs**

– Hydroxyde de sodium 1N.

– Thiosulfate de sodium.

– Solution tampon pH 9,5 :

Glycine	37 g extrait de bœuf (0,5 à 3 %)
eau déionisée	*q, s.p.* 1000 mL

(La quantité d'extrait de bœuf est fonction de sa qualité ; la déterminer au préalable).

– Solution d'antibiotiques et antifongique :

benzyl pénicillinate de sodium	25000 UI/mL
sulfate de colimycine	20000 UI/mL
sulfate de streptomycine	5 mg/mL
sulfate de néomycine	50 mg/mL
amphotéricine B	62,5 μg/mL

– Solution d'élution :

À la solution tampon pH 9,5, ajouter de la solution d'antibiotiques dans la proportion de 10 %. En cas d'expédition de la cartouche, ajuster le pH à 7,5.

■ Mode opératoire

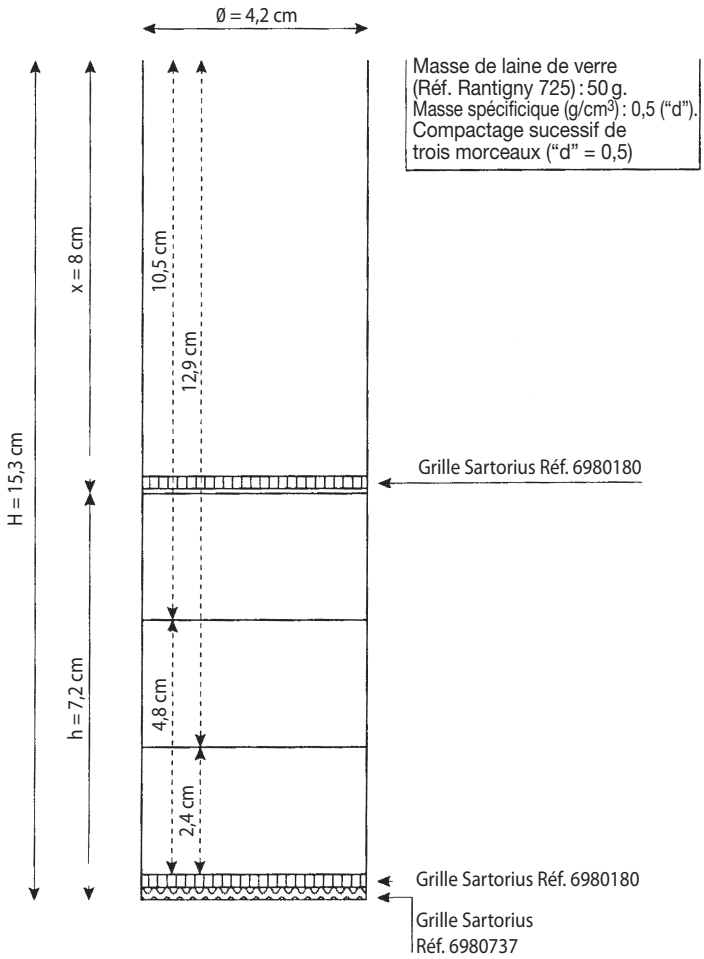
Préparation du filtre en laine de verre

Le filtre à fabriquer recevra respectivement 50 g de laine de verre.

Introduire la masse de laine de verre en trois fractions égales et la compacter à une masse spécifique de 0,5 g/cm^3. Traiter ensuite le filtre de laine de verre par passages successifs des solutions suivantes :

(*) Saint-Gobain-Isover (Orgel : laine de verre réf. Rantigny 725 ou Bourre 725 QN).
(**) Sartorius réf. SM 16249.

Caractéristique du filtre	Nature et volume des solutions (mL)				
Diamètre intérieur (mm)	Masse de laine de verre (g)	HCL N	Eau désionisée stérile	NaOH N	Eau désionisée stérile
42	50	200	500	200	2 x 1000



Préparation d'un filtre en laine de verre pour une cartouche Sartorius ref. SM 16249

Les conditions d'utilisations en fonction du type d'eau analysée

Ces conditions sont récapitulées dans le tableau suivant :

Caractéristiques du volume d'échantillon à traiter	Nature de l'eau		
	Eaux de boisson	Eaux superficielles	Eaux résiduaires épurées
Diamètre (mm)	42		
Masse de laine de verre (g)	50		
MS (g/cm3)	0,5		
Débit maximal (L/h)	100	50	50
Amplitude du volume d'échantillon (L)	100 à 400	10 à 100	10 à 50
Volume recommandé (L)	100	30 à 50	30

Remarque : Le choix du carter diamètre ~40 mm permet d'être utilisé facilement sur une amplitude importante du volume d'échantillon. Pour information il est possible d'avoir des carters de diamètre différent.

Ces conditions sont récapitulées dans le tableau suivant :

Caractéristiques du volume d'échantillon à traiter	Nature de l'eau		
	Eaux de boisson	Eaux superficielles	Eaux résiduaires épurées
Diamètre (mm)	62	20	20
Masse de laine de verre (g)	200	5	5
MS (g/cm^3)	0,5		
Débit maximal (L/h)	300	10	10
Amplitude du volume d'échantillon (L)	100 à 2000	10 à 30	10 à 20
Volume recommandé (L)	1000	10	10

Élution des virus

Éliminer l'eau contenue dans la cartouche sous pression d'air stérile (filtre 0,2 nm). Pratiquer immédiatement l'élution à l'aide d'une solution tampon pH 9,5 (voir 6.1.1 réactif). Faire passer progressivement l'éluant à travers

la laine de verre et le recueillir en trois fractions dans un flacon stérile (contenant 10 % de la solution d'antibiotiques) en observant un temps d'arrêt d'environ deux minutes chacun, pour les deux premières fractions et chasser sous une pression d'environ 2 bars la dernière fraction (dernier tiers). Neutraliser alors le concentrat sous agitation.

Le volume de l'éluant est fonction de la cartouche de laine de verre choisie :

Diamètre 42 mm	**50 g laine de verre**	**300 mL**
Diamètre 20 mm	5 g laine de verre	30 mL
Diamètre 62 mm	200 g laine de verre	700 mL

Traitement des concentrats

Reconcentrer ou inoculer immédiatement le concentrat décontaminé ou à défaut :

– le stocker à 4 °C, 24 heures au maximum,

– le congeler à – 30 °C ou – 70 °C 1 mois maximum. Avec le temps, il risque d'avoir une chute de la concentration virale.

6.1.2 Méthode de concentration sur filtre en microfibres de verre

La filtration sur filtre en microfibres de verre présente l'avantage de faire appel à un matériel commercialisé, peu fragile et bien adapté aux analyses sur le terrain. De plus, la concentration peut être réalisée par un laboratoire non spécialisé puis expédiée à un laboratoire de virologie pour les cultures. Cependant, pour éviter les phénomènes de colmatage, il faut dans certains cas un préfiltre et limiter le volume de l'échantillon à analyser.

■ Principe

Les filtres en microfibres de verre sont en pyrex borosilicaté chargé négativement. L'adsorption virale est réalisée sur une eau préalablement acidifiée (pH = 3,5), contenant du chlorure d'aluminium qui favorise l'adsorption des virus chargés positivement à ce pH. Les virus adsorbés sont ensuite élués à l'aide d'un tampon alcalin.

■ Prélèvement

Prélever l'échantillon soit par concentration *in situ,* par branchement sur un robinet, soit dans des récipients stériles.

Pour le prélèvement in situ, utiliser deux injecteurs en continu :

– un injecteur d'acide en quantité suffisante pour obtenir un pH de 3,5, à contrôler ave une électrode en circuit ;

– un injecteur d'une solution de chlorure d'aluminium 0,5 *M* en quantité suffisante pour obtenir une concentration finale de 0,066 g/L (5.10^{-4} *M).*

La concentration terminée, placer la cartouche de fibre de verre dans un flacon stérile contenant 20 mL de solution tampon pH 7,5.

Pour le prélèvement en récipients stériles, prélever l'échantillon d'eau en prenant le maximum de précaution d'asepsie dans des récipients stériles

de 10 à 25 litres : bonbonnes en matière plastique stérilisées par l'ozone ou l'oxyde d'éthylène, ou récipients en PVC stérilisés à l'autoclave à 110 °C pendant 30 min.

En présence d'eau supposée chlorée, introduire dans le récipient du thiosulfate de sodium à raison de 70 mg par litre d'eau prélevée.

Faire parvenir les récipients le plus rapidement possible au laboratoire, à la température de l'échantillon, dans un délai inférieur à 24 heures.

☐ **Matériel spécial**

- Verrerie et matériel courant de laboratoire.
- Filtres en microfibres de verre (Balston 8 G-10-0,25 ou équivalent).
- Support pour filtres (Balston ES 10-1*12* P ou équivalent).
- Placer chaque filtre dans un support en polycarbonate stérilisable à l'autoclave.
- Moteur agitateur à hélice pour homogénéisation de l'échantillon lors de l'acidification.
- pH-mètre.
- Broyeur homogénéiseur (20 000 tours par min).
- Centrifugeuse réfrigérée (10 000 g).
- Tuyau de 10 mm de diamètre en versilic.
- Membrane filtrante 0,22 la. m (Sartorius SM 16534 K ou équivalent).
- Flacons de transport à usage unique stérile de 40 mL (30 x 70 mm).
- Gaze (20 cm x 20 cm) en triple épaisseur.
- Tube à centrifuger en polypropylène (capacité maximale 50 mL).
- Tubes à centrifuger en verre de 100 mL.

☐ **Réactifs**

- Acide chlorhydrique.
- Solution d'acide chlorhydrique *N*.
- Solution de chlorure d'aluminium à 66,67 g/L :

chlorure d'aluminium ($AlCl_3$)		66,67 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

- Solution tampon pH 9,5 : (voir B-6.1.1, réactif).
- Solution d'antibiotiques : (voir B-6.1.1, réactif).
- Solution d'élution. (voir B-6.1.1, réactif).

■ Mode opératoire

Préparation de l'échantillon

Pour les échantillons prélevés en récipients stériles, acidifier l'eau à analyser à pH 3,5 sous agitation constante, directement dans la bonbonne de 20 L. Ajouter de la solution de chlorure d'aluminium à l'échantillon pour obtenir une concentration finale de 0,066 g/L.

Adsorption/Concentration

Connecter stérilement le système : tige de verre – tube silicone – pompe (péristaltique) – cartouche filtrante en respectant le sens de filtration ; éventuellement préfiltrer.

Effectuer l'adsorption par filtration au travers des cartouches en microfibres de verre à un débit de 180 L/h.

Après passage de la totalité de l'échantillon, sortir le filtre du bol en polycarbonate stérilement au moyen de pinces flambées à l'alcool. Le découper aseptiquement dans un plat en acier inoxydable au moyen de ciseaux, longitudinalement en quatre parties égales.

Élution

Traiter les filtres immédiatement ou dès leur réception. (En cas d'expédition, rajouter 20 mL de la solution tampon pH 9,5.) Ajuster à 40 mL et à pH 9,5 et découper les quatre fragments en morceaux d'environ 1 cm de côté. Puis les broyer à 4 °C dans les 40 mL à l'aide d'un homogénéiseur-broyeur à la vitesse de 20 000 rpm jusqu'à parfaite homogénéisation (environ 5 min). Exprimer le broyât obtenu au travers de la gaze au moyen de deux pinces flambées à l'alcool. Récupérer l'extrait clarifié et le centrifuger à 10 000 g, 15 min à 4 °C, dans un pot en polypropylène stérile de 50 mL.

Recueillir le surnageant et le neutraliser immédiatement à pH 7,2 avec une solution d'acide chlorhydrique *N.*

Traitement des concentrats

Reconcentrer ou inoculer immédiatement le concentrat décontaminé ou à défaut :

– le stocker à 4 °C, 24 heures au maximum,
– le congeler à – 30 °C ou – 70 °C.

Remarque

Dans le cas où le filtre est expédié à un autre laboratoire, placer les morceaux de filtre dans un pot en polypropylène stérile contenant 20 mL de solution d'élution avec un antibiotique. Expédier le filtre le plus rapidement possible : dans ces conditions, il n'y a pas d'inactivation sensible des virus en 30 h à température ambiante.

6.1.3 Méthode de concentration sur poudre de verre

L'adsorption sur poudre de verre en lit fluidisé supprime tout risque de colmatage mais nécessite un appareillage spécifique. Cette méthode reste essentiellement une méthode de laboratoire mais peut cependant être utilisée sur le terrain (méthode de Sarrette *et al.,* 1977).

■ Principe

Le principe est identique à celui de la concentration sur filtre en microfibres de verre mais la concentration s'effectue par filtration ascensionnelle au sein du filtre dynamique de poudre de verre.

La méthode n'est plus guère utilisée, sa mise en œuvre est délicate.

6.1.4 Méthode de concentration des enterovirus dans les boues

La méthode consiste à rompre les liaisons virus-particules de boues.

La séparation du virus des particules de boues, est basée sur les propriétés électrostatiques du virus, de son pH, de son environnement, de la présence de réactions hydrophobes et la présence protéines. En effet,

les protéines ont la propriété de rentrer en compétition avec le virus par adsorption sur les sites des particules de boues.

Principe

On va artificiellement varier le pH du complexe virus-boue, pour arriver à un pH alacalin en présence de protéines. Le pH sera alors supérieur au pH isoélectrique du virus, dans ces conditions, il va acquérir une charge globale négative, à ce moment-là, le virus aura la propriété de se libérer dans la phase liquide.

Réactif

- NaOH 1N.
- HCL 5N.
- NaCl.
- PEG 6000 (polyéthylèneglycol 6000).
- Antibiotique 100X (Cf. B-6.1.1).
- PBS : (poly buffer phosphate).

Mode opératoire

Il est conseillé de traiter la boue avec un rapport de 5 volumes d'éluant pour un volume de boue.

– Mélanger la solution éluante (Glycine 50 mM pH = 9,5 contenant de l'extrait de bœuf) avec la boue, puis ajuster à pH = 9,5. On procède à une agitation magnétique, (500 rpm, 1 à 60 min). On centrifuge (5000 g, 20 min, 4 °C). Le virus se trouve dans le surnageant que l'on récupère, on ajuste à pH 7.4 avec de HCl 5N puis 1N. On fait une deuxième concentration par le polyéthylène glycol (PEG), on ajoute : 2,5 % NaCl (Poids/Volume) puis 7,5 % PEG 6000 (P/V). Agitation magnétique 20 min T° ambiante, à nouveau on centrifuge (5000 g, 110 min, 4 °C). Le virus se trouve emprisonné dans le culot de PEG (Lewis and Metcalf, 1988 ; Albert *et al.*, 1995). Le culot est repris par 10 mL de PBS pH = 7,4. il faut à cette étape bien rincer le pot à centrifuger avec 2 mL de PBS pH = 7,4. On ajoute 2 % antibiotique 100X dans le concentrat. On ajuste à pH = 7,4. Il est possible à cette étape, de laisser toute la nuit (12 heures à 4 °C) ou directement agiter 20 min sur une table d'agitation. Il est important de bien rincer le pot à centrifuger avec du PBS. À titre indicatif, le volume du concentrat est compris entre 15 et 25 mL. Procéder à la décontamination bactérienne de l'échantillon.

– Décontamination bactérienne de l'échantillon : On procédera à une double décontamination. La boue est une matrice généralement très chargée en bactérie et micro-organisme résistants il est donc nécessaire de faire un traitement par le chloroforme qui permet d'éliminer les bactéries résistantes aux antibiotiques puis on terminera par une filtration sur des membranes filtrantes de porosité 0,22 µm qui auront été au préalable traitées par du sérum de veau stérile pour éviter l'adsorption du virus sur la membrane.

Traitement au chloroforme :

- Concentrat + 1/3 (V/V) de chloroforme.
- Agitation magnétique : 30 min, 4 °C.
- Centrifugation 1500 g, 20 min, 4 °C.

– Récupérer la phase aqueuse dans un tube en verre muni d'un bouchon percé permettant de faire arriver l'azote et faire repartir les traces de chloroforme vers un récipient contenant du charbon actif. Il est conseillé de faire barboter, environ 45 min, l'azote à débit faible.

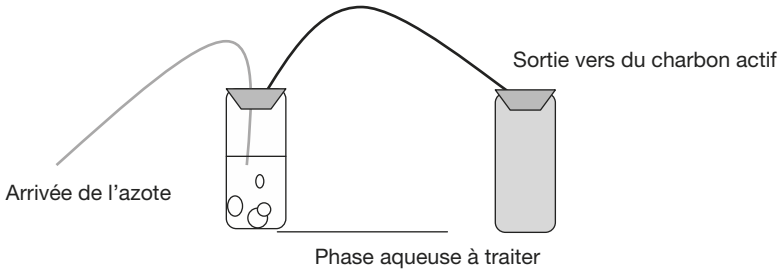


Schéma de montage : Traitement au chloroforme

■ Expression des résultats

Exprimer le nombre de plages détectées en UFP (Unité Formant Plage) ou le NNP trouvé rapporté à 10 g de matière sèche.

6.2 Reconcentration des virus (laine de verre et microfibre de verre)

■ Principe

Le concentrat (ou éluat) obtenu par l'une des deux méthodes décrites précédemment est reconcentré par la technique de floculation organique décrite par Katzenelson en 1976, avec quelques modifications.

☐ Réactifs

– Solution d'acide chlorhydrique 3 *N*.

– Solution d'acide chlorhydrique 1 *N*.

– Solution de monohydrogénophosphate de sodium à 21,3 g/L :

monohydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4)		21,3 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Ajuster le pH à 9.

– Solution d'antibiotiques :

Se reporter à la méthode de concentration sur filtre en microfibres de verre (B-6.1.1 réactif).

– Solution d'élution :

Solution de monohydrogénophosphate de sodium	900 mL

– solution d'antibiotiques 100 mL

Mode opératoire

Acidifier le concentrat à pH 3,5 avec de l'acide chlorhydrique 3 *N* sous agitation magnétique, maintenue 45 min. à 20 °C.

Centrifuger à 3500 g pendant 45 min à 4 °C. Éliminer le surnageant, reprendre le culot par un volume de solution d'élution qui correspond au 1/50 du volume initial. Ajuster le pH à 7,2.

Procéder à une décontamination bactérienne et fongique. Filtrer le concentrat neutralisé sur une membrane ou plusieurs qui aura été prétraitée par une solution stérile de sérum de veau.

6.3 Isolement et numération des virus

Principe

L'isolement des particules virales est réalisé par inoculation du concentrat à des cellules cultivées *in vitro* en monocouche. La numération des virus contenus dans le concentrat est effectuée selon les habitudes du laboratoire :

– méthode des plages, (milieu gélose) ;

– microméthode en milieu liquide (NPP) qui a l'avantage d'être d'une mise en œuvre plus aisée, d'éviter tout choc thermique sur les virus et de permettre des repiquages favorisant la mise en évidence des souches.

Matériel et réactifs communs à la méthode des plages et à la méthode NPP

– Centrifugeuse 4000 g.

– Tubes de Leighton.

– Les cellules sont laissées au choix des laboratoires. On peut recommander les cellules K.B., Hela, BGM (*Buffalo Green Monkey Kidney*), cellules de lignée continue hautement recommandées pour leur sensibilité aux entérovirus. K.B. et Hela permettent de plus l'isolement des adénovirus.

6.3.1 Méthode des plages

Matériel

– Étuves 37 °C avec 5 % d'anhydride carbonique ou caisson de Lwoff.

– Boîtes de Pétri (0 : 60 mm).

Réactifs

– Milieu gélose complémenté en antibiotiques.

– Coloration des plages : solution de cristal violet ou rouge neutre à 2 g/L.

– Tampon phosphate (PBS) sans calcium ni magnésium, pH 7,2.

– Acide chlorhydrique 0,1 *N*.

Mode opératoire

Inoculer le concentrat final dans sa totalité, aux cellules cultivées en monocouche dans des boîtes de Pétri (0 = 60 mm) à raison de 1 mL/boîte. Après 90 min d'absorption à 37 °C en atmosphère contenant 5 % d'anhydride

carbonique, éliminer l'inoculum et rincer les boîtes trois fois avec 5 mL de PBS.

Introduire dans chaque boîte 8 mL de milieu gélose, les mettre à incuber à l'étuve à 37 °C (atmosphère : 95 % d'air – 5 % de CO_2) durant 8 jours. Durant cette période d'incubation, observer les boîtes journellement. Cloner les plages de lyse au fur et à mesure de leur apparition en vue de caractériser et sérotyper les virus isolés.

Effectuer le dénombrement final, après les 8 jours d'incubation, soit directement si du rouge neutre (0,002 %) a été incorporé dans le milieu gélose, soit après fixation des tapis cellulaires par l'acide chlorhydrique 0,1 *N* pendant 20 min et coloration avec la solution de crystal violet.

■ Expression des résultats

Exprimer le nombre de plages détectées en UFP (Unité Formant Plage) rapporté au volume analysé initialement.

Lors de l'apparition d'une plage de lyse, effectuer des clonages à partir de la plage de lyse.

6.3.2 Dénombrement par microméthode en milieu liquide (NPP)

□ **Matériel**

– Microplaques à 96 puits pour cultures cellulaires.

□ **Réactif**

– MBE additionné de 2,5 % de tampon Hepes 1 Met 10 % de sérum de veau nouveau-né. Ce produit est commercialisé.

■ Mode opératoire

Inoculer le concentrat à raison de 25μl par puits. Préparer une suspension de cellules à 2.10^5 cellules par millilitre dans du milieu MBE additionné de 2,5 % de tampon Hepes et 10 % de sérum de veau foetal. Répartir cette suspension dans chaque puits à raison de 150 μL. Observer les microplaques incubées à 37 °C en atmosphère humide (sans CO_2) tous les jours pendant 5 jours et noter les puits positifs. Après 3 cycles de congélation-décongélation, transférer 25 μL de chaque cupule dans un nouveau puits d'une autre microplaque contenant 150 μL de suspension cellulaire. Effectuer ensuite un second passage dans les mêmes conditions. Ces repiquages successifs ont pour but de confirmer les effets cytopathiques (ECP). Au bout du 5e jour d'incubation du 2e passage, effectuer la lecture en comptant le nombre de puits présentant un ECP.

■ Expression des résultats

Le nombre de puits positifs observés après reconcentration constitue le nombre caractéristique (NC) permettant de déterminer le nombre le plus probable d'unité cytopathique (NPPUC), à rapporter au volume analysé.

6.4 Identification des virus

6.4.1 Caractérisation des virus isolés

À partir des stocks de virus obtenus après repiquage des plages ou des puits, effectuer la détermination de genre *Enterovirus* par caractérisation de l'effet cytopathogène (ECP) après culture sur lamelle en tube de Leighton puis coloration par hématoxyline-éosine. Pour les enterovirus, l'ECP est caractérisé par un rabougrissement cellulaire, une inclusion éosinophile intra-cytoplasmique refoulant un noyau devenu pycnotique.

6.4.2 Identification des enterovirus isolés

Titrer le stock de virus par la méthode de la DI 50 %. Pour la séroneutralisation proprement dite, disposer dans les puits d'une microplaque 25 μL de virus dilué à 100 DI_{50} et 25 μL d'antisérum (spécifiques ou mélanges A et E de Lim-Benyesch-Melnick) à 20 Unités Neutralisantes. Ménager des témoins virus 100 DI_{50} et 1 DI_{50}.

Après incubation de la microplaque 2 heures à 37 °C, distribuer 150 μL de suspension cellulaire à 2. 10^5 cellules/mL.

Incuber à 37 °C en atmosphère humide jusqu'à apparition de l'effet cytopathique dans les puits témoins virus.

6.4.3 Identification des souches vaccinales de poliovirus

Deux méthodes permettent d'identifier les souches vaccinales de poliovirus :

– détermination du rendement en culture cellulaire à 40 °C (rct 40), mettant en évidence une différence d'au moins 4 log entre les titres à 37 °C et 40 °C, pour les souches vaccinales ;

– typage intratypique par séroneutralisation au moyen d'anticorps monoclonaux.

> **Remarque**
> L'identification n'est pratiquée que sur demande expresse car elle nécessite des réactifs coûteux et rares.

6.5 Méthodes moléculaires

■ Principes

On peut utiliser une autre technique de mise en évidence des particules virales, basée sur la détection non plus du virus en lui-même mais du génome viral. Cette détection est basée sur un mécanisme d'amplification par PCR (polymerase chain reaction, Mullis K. et Faloona 1987). Mais préalablement à cette amplification l'ARN ou l'ADN (en fonction du type de virus) doit être extrait de la capside du virus. Pour cela de nombreux procédés sont décrits dans la littérature (Da Silva AK *et al.* 2007…), et des kits commerciaux sont disponibles et permettent une purification fiable des acides nucléiques.

S'il s'agit d'ARN après cette extraction, il doit être transcrit en ADNc (ADN complémentaire). Le génome est alors amplifié par PCR. Le grand nombre de copie produit lors de l'amplification permet la détection de la partie amplifiée du génome.

Cette détection peut se faire de différente façon :

– Soit, après électrophorèse dans un gel d'agarose ou de polyacrylamide, par transillumination UV. L'incorporation de bromure d'éthidium est alors nécessaire. C'est la technique la moins sensible, elle ne permet que de vérifier la taille du fragment amplifié.

– Soit par hybridation de la séquence amplifiée par des sondes. Il s'agit de sondes déjà fixées, l'amplification doit se faire avec des marqueurs spécifiques (line prob assay, puces à ADN…). La séquence amplifiée est fixée sur une membrane nylon éventuellement après électrophorèse, puis détectée grâce à des sondes spécifiques (Southern blot, dot blot).

On fait également de plus en plus souvent appel à des techniques dites temps réel (PCRq ou RT PCRq) qui permettent de suivre directement pendant l'amplification la quantité d'ADN présente. Cette détection se fait soit directement par incorporation d'un fluorophore (Sybergreen…) soit par hydrolyse d'une sonde spécifique (TaqMan…). Par comparaison avec une gamme étalon il est alors possible de quantifier le nombre de copie initiale. Cette gamme étalon n'étant pas standardisée entre les laboratoires, il est difficile de comparer les résultats.

On peut citer pour mémoire qu'il est possible de séquencer tout ou une partie du génome des virus afin de les identifier très précisément. Une autre voie prometteuse est de coupler la détection par culture cellulaire et l'identification par techniques moléculaires (méthode dite ICC-rtPCR).

Il convient de souligner que le lien entre présence de particules du génome viral et virus infectieux n'est pas toujours direct (Skraber *et al.*, 2004, AFSSA 2007).

Les futurs travaux de normalisation sur ces techniques moléculaires, ainsi qu'une littérature de plus en plus abondante devraient permettre, dans le futur, une utilisation fréquente de ce type de méthode (AFSSA 2007).

Méthodes de référence

XP T90-451 (mars 1996). Essais des eaux – Recherche des entérovirus – Méthode par concentration sur laine de verre et détection par culture cellulaire.

NF EN 14486 (janvier 2006). Qualité de l'eau – Détection des entérovirus humains par culture cellulaire par la méthode des plages.

7 • PARASITOLOGIE

7.1 Introduction

La recherche des agents infectieux dans l'eau ne se limite plus à la recherche des bactéries. En effet suite à des épidémies parfois importantes, les parasites ont été identifiés et peuvent donc maintenant être recherchés dans les eaux. L'OMS a, en 2003, classé les parasites parmi les agents pathogènes émergents. Ce classement fait suite à l'observation d'une augmentation significative de cas d'épidémies d'origine hydrique liées aux parasites à travers le monde.

Ces parasites (principalement *Giardia lamblia et Cryptosporidium parvum*) sont des protozoaires microscopiques des vertébrés. L'existence d'un risque d'infection par ces protozoaires se trouve confortée par l'évaluation d'une dose infectieuse minimale relativement faible (30 oocystes pour *C. parvum*) (AFSSA, 2002). La première épidémie de cryptosporidiose d'origine hydrique a été répertoriée en 1984 aux États-Unis (AFSSA, 2002 ; 2005). Une centaine d'épidémies d'ampleur variable de giardiase d'origine hydrique ont été décrites depuis 50 ans (Karanis et *al.*, 2007). Certaines épidémies marquantes sont résumées sur le tableau 1. Quelques rares épidémies liées à *toxoplasma gondii* ont été rapportées (AFSSA 2005), l'identification de ce parasite ne sera pas traitée ici.

Tableau 1 : Épidémies remarquables de cryptosporidiose et de Giardioses par consommation d'eau contaminée

	Date	Lieu	Nombre de cas	Notes
cryptosoridiose	1984	Texas – USA		Première épidémie d'origine hydrique
	1993	Milwaukee – USA	403 000 malades 4 400 hospitalisations 69 décès	Problème de filtration Débuts de la recherche spécifique des parasites dans les eaux
	1992	Grande-Bretagne	47 cas	Source d'eau souterraine
	1998	Sète – France	150 enfants	Point de captage en rivière contaminé lors d'une cru
	2001	Drancy-le-fort – France	480 cas	Contamination du réseau de distribution
Giardiose	1979	Pennsylvanie – USA	3 500	Contamination de la ressource + chloration inefficace
	1986	Sälen – Suède	> 1 400	Contamination du réseau par des eaux usées
	1994	Ontario – Canada	300	Contamination d'origine tellurique après de fortes précipitations
	1995	New York – USA	1 449	Traitement défaillant

La découverte de ces cas de transmission par consommation d'eau a suscité un intérêt certain pour la recherche de ces parasites dans le milieu hydrique. Par la suite, des études ont montré leur grande résistance à certains désinfectants comme le chlore ou l'ozone, par rapport aux bactéries. En effet, leur capacité à s'enkyster, sous forme d'oocyste (pour les cryptosporidies et le toxoplasme) ou de kyste (pour *Giardia*), ainsi que leur paroi peu perméable semblent leur conférer une grande résistance aux agents chimiques et aux variations des conditions environnementales (température, pH…).

Malgré leur incapacité à se multiplier dans l'eau, ces parasites peuvent rester viables et conserver leur potentiel infectieux pendant plusieurs mois. S'ils sont généralement éliminés lors des procédés physiques de traitement des eaux comme la floculation ou la sédimentation, ils peuvent néanmoins être retrouvés dans les eaux de surface ainsi que dans les eaux traitées (AFSSA 2002 ; 2005, Mons et *al.* 2008).

Il existe une méthode normalisée en France concernant la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* et des Kystes de *Giardia* dans l'eau. Cette méthode est basée sur la filtration de grand volume, étant donné la faible contamination du milieu.

7.2 Description du pathogène

■ Cryptosporidium parvum

Cryptosporidium est un protozoaire appartenant à la famille des Coccidiés. Son cycle de multiplication se déroule dans les cellules épithéliales intestinales. Les oocystes sont excrétés dans les fèces. Il existe une vingtaine d'espèces (*C. parvum, bovis, canis…*) mais *C. parvum et C. hominis* sont généralement considérés comme étant les principaux agents responsables des symptômes clinique chez les humains. C'est un parasite caractérisé par la présence de quatre sporozoïtes dans l'oocyste mature dont la taille varie de 4 à 6 μm.

■ Kystes de Giardia Lamblia

Giardia un protozoaire flagellé, parasite de l'intestin des mammifères, appartenant à la famille des Hexamitidae. Il existe de nombreuses espèces (G. *G. muris* G. *ardeae…*). Lorsqu'il est dans l'intestin, il est appelé trophosoïte. Il s'enkyste lors de l'excrétion. À ce stade, le kyste de Giardia a une forme ovoïde de 8 à 14 μm de longueur sur 7 à 10 μm de largeur).

Ces parasites provoquent des gastro-entérites, fièvres. On constate des pathologies plus sévères pour les personnes immunodéprimées.

7.3 Méthode

■ Domaine d'application

La méthode décrite permet de concentrer et dénombrer les oocystes de *cryptosporidium* et kystes de *Giardia* dans les eaux destinées à la consom-

mation humaine, les eaux souterraines, les eaux de surfaces et les eaux résiduaires (application selon la norme NF T 90-455 de juillet 2001).

Principe de la méthode

La capture des Oocystes de *cryptosporidium* et de kystes de *Giardia* comporte trois étapes :

– La première étape consiste à concentrer sur cartouche filtrante, puis élution du filtre suivi d'une centrifugation à basse vitesse.

– La deuxième étape est la récupération des parasites dans le culot, elle est effectuée par immunocapture sur des billes magnétiques recouvertes d'un anticorps monoclonal anti *cryptosporidium parvum* et *anti giardia lamblia* (IMS). La séparation immunomagnétique (IMS) a remplacé progressivement les procédés de flottation par gradient de densité.

– La troisième étape est l'identification (morphologie et taille) et le dénombrement des parasites, elle est effectuée par immunofluorescence directe et contraste interférentiel de phase. Une coloration au DAPI permet de colorer les noyaux des parasites et de connaître leur viabilité potentielle.

D'autres méthodes peuvent être utilisées comme la cytométrie de flux avec confirmation au microscope mais ne seront pas décrites ici.

Échantillonnage

À titre indicatif, les volumes d'eau analysés sont :

Les eaux destinées à la consommation humaine et les eaux souterraines	Débit maxi conseillé 200 l/h	50 litres à 1 000 litres ou jusqu'à colmatage (volume recommandé 200 L)
Les eaux de surface et eaux résiduaires	Débit maxi conseillé 50 l/h	5 à 50 litres ou jusqu'à colmatage (volume recommandé 50 L)

Il est important de noter le volume d'eau filtré.

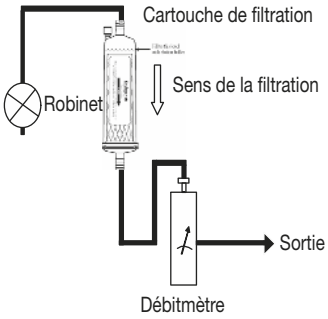
La connaissance de la turbidité de l'eau permet d'orienter son choix quand aux volumes filtrés. Les débris organiques ou inorganiques (algues, suspensions colloïdales, les polymères…) peuvent interférer sur la concentration, la séparation et l'identification des parasites.

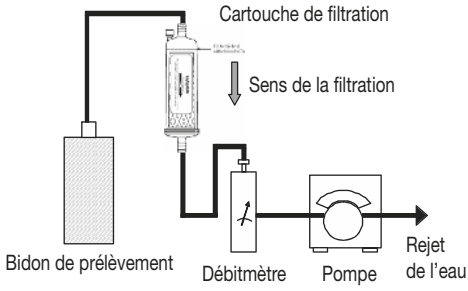
Prélèvement

Deux modes de prélèvements peuvent être pratiqués :

– En présence d'un point aménagé : Robinet, vanne : il suffit de raccorder la cartouche filtrante, maintenue verticalement sur un statif, directement au robinet, suivi d'un débit mètre et d'un compteur volumétrique.

– En l'absence d'un point aménagé : la concentration peut être faite à l'aide d'une pompe ou prélever directement dans des bidons et ramenés au laboratoire pour y être filtrés.





Les prélèvements doivent être transportés le plus rapidement possible au laboratoire dans un délai inférieur à :

– 24 h s'ils sont transportés en glacière ;

– 6 h s'ils ne peuvent être maintenus à basse température.

Il est recommandé de réaliser l'analyse à réception de l'échantillon. En cas d'impossibilité, les échantillons à analyser (cartouches filtrantes ou bidons) peuvent être maintenus à 5 °C ± 3 °C pendant 72 h maximum tout en évitant de laisser le filtre à sec. Dans tous les cas, ne jamais congeler les échantillons.

7.4 Mode opératoire

7.4.1 Première concentration sur cartouche filtrante

☐ **Matériel**

Il existe plusieurs types de cartouches. Les plus couramment utilisées sont les cartouches filtrantes :

– Envirocheck (Pall Gelman) (*) : composée d'une membrane en polyéthersulfone de porosité 1 µm (HV permet de filtrer jusqu'à 1 000 litres d'eau) – (*NF T 90-455 de juillet 2001, EPA method 1623, DWI drinking water inspectorate)*.

– Filta-Max® et Filta-Max xpress® (IDEXX)(**) : Le filtre est composé d'une multitude de disques, il est compressé afin d'arriver à une porosité de 1 µm. *(EPA method1622 - 1623, DWI drinking water inspectorate)*.

– Pompe péristaltique, débitmètre, compteur volumétrique, tuyaux.

– Centrifugeuse réfrigérée, basse vitesse (40 000 ms^{-1}). Rotor pouvant recevoir des pots à centrifuger à fond conique de 250 mL en polycarbonate ou pots à usage unique à fond conique de 250 mL en polypropylène.

– Tube de Leighton.

– Automatic and wash station (IDEXX).

– Concentrateur MPC1 et MPCM (IDEXX).

(*) Pour information : le matériel est distribué par Pall France – www.pall.com
(**) Pour information : le matériel et réactif est distribué par IDEXX : Genera technologies LTD – www.idexx.com

☐ **Réactif**

– Acide chlorhydrique à 0,1N.

– Hydroxyde de sodium à 1N.

– PBS 10X.

– Tween 80 = (polyoxyéthyllènesorbitan monooléate (détergent) dilué au 1/10e.

– Antifoam B Emulsion (anti-moussant), dilué au 1/10e.

– Solution de PBS 1X, pH = 7,4 ± 0,1 : ajouter 50 mL d'une solution de PBS 10X dans 450 mL d'eau déionisée.

– Solution éluante : additionner 750 µl de chaque solution de tween et d'antifoam B au 1/10e à 500 mL d'une solution de PBS 1X. Cette solution est à effectuer le jour de l'analyse.

7.4.2 Élution

☐ **Cartouche filtrante : Envirocheck (Pall Gelman)**

FILTRATION :

(voir paragraphe – Échantillonnage et prélèvement).

ÉLUTION

L'élution est pratiquée en deux étapes successives.

Première étape :

– Prélever environ 120 mL de la solution éluante et les introduire par l'orifice d'entrée de la cartouche.

– Laisser un temps de contact de 15 minutes, en plaçant la cartouche de telle façon que l'orifice d'entrée soit orienté vers le haut.

– Homogénéiser par 5 retournements manuels à raison d'un retournement par seconde ;

– Replacer la cartouche sur son support de façon à ce que l'orifice d'entrée soit orienté vers le bas, et laisser un temps de contact de 15 minutes.

– Procéder à une nouvelle homogénéisation comme décrit ci-dessus.

Récupérer cette première fraction de l'éluat par l'orifice d'entrée de la cartouche et la transvaser dans un pot de centrifugation à fond conique de 230mL en polycarbonate.

Deuxième étape :

– Prélever une seconde fraction de la solution éluante (~ 120 mL) et les introduire par l'orifice d'entrée.

– Positionner la cartouche verticalement, orifice d'entrée vers le haut, vortexer pendant 30 secondes à vitesse maximale.

– Homogénéiser par 5 retournements manuels à raison d'un retournement par seconde.

– Positionner la cartouche verticalement, orifice d'entrée vers le bas, et vortexer pendant 30 secondes à vitesse maximale.

– Homogénéiser par 5 retournements manuels à raison d'un retournement par seconde.

– Positionner la cartouche verticalement, orifice d'entrée vers le haut, vortexer pendant 30 secondes à vitesse maximale.

– Récupérer cette deuxième fraction d'éluat par l'orifice « d'entrée » de la cartouche, et la transvaser dans le pot de centrifugation à fond conique contenant la première fraction.

– Vortexer la cartouche, positionnée verticalement avec l'orifice d'entrée orientée vers le bas, afin de récupérer l'éluat restant dans cette dernière.

> **Remarque**
> L'élution manuelle décrite peut être remplacée par un agitateur mécanique à bras(*)

☐ **Cartouche filtrante : Filta-Max® et Filta-Max xpress® (IDEXX)**

ÉLUTION

L'élution des cartouches filtrantes est effectuée par un équipement spécifique.

MATÉRIEL

– Filta-Max automatic wash Station (pour cartouche filtrante Filta-Max®) (**).

– Pressure Elution station (pour cartouche filtrante Filta-Max xpress®) (**).

CENTRIFUGATION ET REPRISE DU CULOT (POUR LES DEUX TYPES DE CARTOUCHES)

Centrifuger l'éluat récupéré (~250 mL) à une vitesse de 1250 g_{max}, en fond de tube pendant 30 minutes à une température de 5 °C ± 3 °C, (accélération 6, décélération 1).

Éliminer immédiatement le surnageant avec précaution par aspiration lente. Laisser un volume minimum de surnageant au-dessus du culot (~3 mL) ;

> **Remarque**
> Mesure du culot : mesurer le volume du surnageant (v1) au-dessus du culot. Puis mélanger le surnageant et le culot, remesurer le volume total (v2) : le culot = v2-v1
>
> – Si le culot est < 0,5 mL traiter la totalité du culot.
>
> – Si le culot est > 1 mL, faire autant de réaction IMS correspondant à un culot de 0,5 mL.

Introduire dans le tube Leighton le surnageant et le culot, additionner d'eau déionisée qsp 10 mL.

(*) Pall Corporation bar n° 4821.
(**) Se référer au manuel d'instruction du fournisseur.

7.4.3 Récupération des parasites (réaction IMS)

■ Principe

Les kystes et les oocystes sont alors séparés des débris dans un champ magnétique. La récupération des parasites est obtenue par immunocapture sur des billes magnétiques recouvertes d'un anticorps monoclonal anti *Cryptosporidium parvum* et anti *Giardia lamblia.*

> **Remarque**
> Des concentrations élevées de fer peuvent inhiber la séparation imunomagnétique.

☐ **Matériel**

– Agitateur rotatif : (Dynal Sample Mixer®) (*).

– Concentrateur magnétique pour tubes de Leighton (Dynal® « MPC-1 ») (*)(**).

– Concentrateurs magnétiques pour microtubes (Dynal® « MPC-M » ou « MPC-S ») (*) (**).

– Vortex.

– Tube Leighton (*).

– Microtubes de centrifugation 1,5 mL et 0,5 mL.

– Incubateur thermostaté à 36 °C ± 2 °C.

– Lames de verre à puits pour immunofluorescence + lamelles.

☐ **Réactif**

– Kit IMS – Dynal « Dynabeads GC-Combo (*) (***) comprenant :

– Billes immunomagnétiques anti-*Cryptosporidium parvum*.

– Billes immunomagnétiques anti-*Giardia lamblia*.

– Tampons « SL-A 10X » et « SL-B 10X.

■ Mode opératoire

– Introduire dans le tube Leighton, 1 mL de tampon « SL-A 10X » et 1 mL de tampon « SL-B 10X ».

– Vortexer les suspensions de billes magnétiques pendant 10 secondes puis introduire 100 μL de chaque suspension de billes magnétiques dans le tube Leighton.

– Placer le tube Leighton dans l'agitateur rotatif (Dynal Sample Mixer®) et laisser agiter pendant 60 minutes à température ambiante.

– Enlever le tube de l'agitateur et le placer dans le concentrateur magnétique (MPC-1).

– Agiter lentement l'ensemble par retournements manuels successifs de 90°, pendant 2 minutes à raison d'un retournement par seconde.

– Remettre l'ensemble (tube Leighton et MPC-1) en position verticale. Enlever immédiatement le bouchon et transvaser le surnageant dans un

(*) Pour information : le matériel et réactif est distribué par IDEXX : Genera technologies LTD – www.idexx.com.
(**) Pour information : fabricants fournissant les billes immunomagnétiques (p. ex., Dynal Inc., Aureon Biosystems, ImmuCell Inc., Miltenyi Biotech, BMD…).
(***) Pour information : fabricants fournissant les billes immunomagnétiques (p. ex., Dynal Inc., Aureon Biosystems, ImmuCell Inc., Miltenyi Biotech, BMD…).

tube, tout en évitant de décoller les billes magnétiques maintenues grâce à l'aimant du (MPC-1).

– Enlever le tube du concentrateur magnétique (MPC-1) et re-suspendre l'échantillon dans 1 mL de tampon « SL-A 1X ». Mélanger doucement pour remettre en suspension toutes les billes.

– Transférer la totalité de la suspension dans un microtube de 1,5 mL.

Placer le microtube sur le portoir magnétique (MPC-S ou MPC-M) et l'incliner de 90° d'avant en arrière. Répéter le mouvement pendant 1 minute à raison d'un retournement par seconde. À la fin de cette étape, les billes magnétiques (avec les oocystes et kystes liés aux anticorps) doivent former un dépôt le long de la paroi du tube en contact avec l'aimant.

Ouvrir le tube, toujours maintenu dans le portoir (MPC-S ou MPC-M) et aspirer immédiatement le surnageant en prenant soin de ne pas toucher ni éliminer les billes accrochées à la paroi du tube.

Un rinçage supplémentaire des billes magnétiques est possible lorsque l'échantillon présente encore des dépôts liés généralement aux eaux de surface ou eaux.

Dissociation du complexe [billes/parasites]

– Ajouter 50 µl d'HCl 0,1 N dans le microtube, et homogénéiser à l'aide d'un vortex pendant 10 s.

– Placer le microtube sur un portoir puis observer un temps de contact de 10 min à température ambiante.

– Retirer le microtube du portoir, et homogénéiser à nouveau 10 s au vortex.

– Le complexe (billes + acide) se trouve au fond du microtube, puis placer ce dernier sur le portoir « MPC-S », ou « MPC-M », et laisser 10 s, les billes sont aimantées.

– Prélever le surnageant dans lequel se trouvent les *Cryptosporidium parvum* et les *Giardia lamblia*, puis les introduire dans un microtube de 0,5 mL, contenant 5 µl de NaOH 1 M.

– Homogénéiser doucement par aspiration – refoulement.

– Déposer 20 µl du concentrat par puits, laisser sécher dans un incubateur à 36 °C ± 2 °C pendant au moins 30 minutes.

> Dans le cas des eaux brutes (eaux de rivières, ou de lac), il est conseillé de diluer au 1/2 le concentrat afin de diminuer les effets de la matrice lors de l'observation au microscope.
>
> Le concentrat, dilué ou non, doit être observé en sa totalité.

7.4.3 Identification (morphologie et taille) et le dénombrement des parasites

■ Principe

L'analyse systématique des parasites protozoaires dans des échantillons d'eau repose sur la détection directe au microscope à épifuorescence. L'observation permet de visualiser les parasites par leur forme et leur taille,

également il est possible de voir si le parasite est intact, altéré ou vide. Le colorant vital DAPI met en évidence le noyau et facilite l'identification (Grimason et *al.* 1994).

> **Remarque**
> L'identification demande une technicité particulière. Il est indispensable de s'exercer et de suivre une formation. Un module d'entraînement de lecture est à l'adresse suivante :
> http://www.epa.gov/safewater/lt2/training/module_microscopy/crypto/gand-crypto/crypto0310.htmL

□ **Matériel**

Microscope à épifluorescence : Il doit être muni d'un filtre de longueur d'onde à 480nm et d'un filtre d'émission de longueur d'onde à 527 nm. Il doit être équipé pour la lecture en interférentielle de phase en lumière transmise.

□ **Réactif**

– Solution d'Anticorps *anti-*C*ryptosporidium et anti-Giardia* marqués à la fluorescéine (FITC) (*).

– DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) à 2 mg/mL : dissoudre 2 mg de DAPI dans 1 mL de méthanol absolu.

■ Mode opératoire

– Déposer sur chaque puits contenant du concentrat, une goutte de méthanol Laisser évaporer à température ambiante durant quelques minutes.

– Marquage spécifique à l'aide des anticorps marqués à la fluorescéine.

– Coloration au DAPI, mettre 20 µl par puits, rincer avec 50 µl d'eau, sécher la lame.

La totalité de la surface des puits doit être observée de façon méthodique (balayage vertical ou horizontal).

> **Remarque**
> Suivant le FITC utilisé, suivre la procédure indiquée par le fournisseur.

Critères d'identification en fluorescence

Les oocystes de ***Cryptosporidium*** doivent répondre aux critères suivants :

– Taille : 4 à 6 µm.

– Forme sphérique ou légèrement ovale ou forme de "Pack Man ».

– Fluorescence verte avec une intensité plus forte de la paroi externe (nette et régulière).

– La présence (non systématique) de la ligne de suture longitudinale (fluorescence très verte réfringente).

– Peuvent être observés : « vacuole » plutôt centrale de taille variable, des sporozoïtes allongés et falciformes (4 maximum) et une structure corpusculaire.

(*) Pour information : fournisseurs FITC (BTF easystain, WATERBORNE Aqua glo, BMD...).

Les kystes de ***Giardia*** doivent répondre aux critères suivants :

– Taille : 9 µm -15 µm x 7 µm – 10 µm.

– Forme ovoïde.

– Fluorescence verte assez intense avec, une intensité plus forte pour la paroi externe nette et régulière.

Peuvent être observés :

– 4 noyaux ;

– des débris flagellaires et les corps para-basaux ;

– deux structures caractéristiques, en bâtonnet ou en virgule.

Critères d'identification en contraste interférentiel en lumière transmis

Lors d'une confirmation en contraste interférentiel en lumière transmise, les parasites apparaissent en relief sur fond gris : seuls les parasites disparaissent et réapparaissent au moment de la mise au point avec la vis de réglage du contraste, les sporozooïtes sont visibles en relief. Les autres éléments non parasitaires restent invariables lors de cette mise au point.

7.4.4 Expression des résultats

Nombre total de oocystes de cryptosporidium et de kystes de Giardia détecté dans le volume d'eau filtré. En cas d'absence, indiquer « absence de détection dans le volume filtré ».

7.4.5 Contrôle qualité

Présence d'un témoin positif pour chaque série de lecture, il permet de vérifier le marquage immunologique. Les contrôles qualités sont effectués avec une solution de titrage d'oocystes de Cryptosporidium parvum et de kystes de Giardia lamblia, contenant une cinquantaine de chaque parasite dans 20 µl.

Méthode de référence

Norme NF T 90-455 (juillet 2001). Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement d'oocystes de Cryptosporidium et de kystes de Giardia – Méthode de concentration et de dénombrement

8 • LES AMIBES LIBRES

8.1 Introduction

Historiquement, Entamoeba histolytica était considérée comme la seule amibe pathogène pour l'homme. La découverte de cas humain de méningo-encéphalite amibienne primitive due à Naegleria, à Acanthamoeba ou à Hartmannella a suscité un intérêt nouveau pour les amibes libres dans l'eau.

Les *amibes libres* sont présentes dans notre environnement et sont retrouvées à tous les stades de la production y compris la distribution de l'eau. Les amibes dites « libres », car non parasitaires, sont présentes dans tous les milieux naturels et en particulier dans les eaux douces (Loret et *al* 2008), ainsi que souvent dans les réseaux de distribution.

Leur résistance est liée à leurs différentes formes : Les amibes existent sous deux formes :

– sous forme végétative (trophozoïtes),

– sous forme de kystes, plus résistant dans l'environnement mais également à certains traitements de désinfections, Storey MV *et al* 2004.

Les *amibes* appartiennent au groupe des protozoaires de la classe des rhizopodes et se déplaçant à l'aide de leurs pseudopodes.

La présence des amibes est très liée à l'existence de biofilms. Ces derniers se développent très rapidement lorsque les conditions sont réunies, c'est-à-dire, une température suffisante, un apport de nutriment, d'un support accueillant promoteur.

Le biofilm peut alors être le lieu de développement des amibes, elles y croissent et se multiplient aux dépens des bactéries.

L'intérêt du suivi des amibes est lié également à la présence des légionelles, en effet il a été montré que les amibes peuvent être les hôtes des légionelles. Le suivi des amibes dans un biofilm peut apporter des informations sur la présence de légionnelle.

8.2 Pathologie

Parmi les nombreux genres recensés seuls deux ont un pouvoir pathogène démontré pour l'homme :

– le genre *Naegleria*, dont l'espèce *N. fowleri*, est responsable de méningo-encéphalite amibienne ;

– le genre *Acanthamoeba*, qui est responsable de méningo-encéphalite granulomateuse et de kératite chez les porteurs de lentilles.

La contamination peut s'effectuer par inhalation d'une eau contaminée au cours de baignades ou par exposition à un aérosol.

8.3 Domaine d'application

Ce protocole est applicable aux réseaux d'eau destinée à la consommation humaine (eau chaude sanitaire, eau froide), aux eaux industrielles (tours aéroréfrigérantes, circuit de refroidissement), aux eaux récréatives (eau de piscine, eau de baignade), et aux eaux de surface.

■ Principe

Le principe de la méthode consiste à mettre en présence les amibes recueillies d'un concentrât d'eau avec une souche d'*Escherichia Coli* préalablement étalée sur une gélose cœur cervelle.

C'est une méthode qualitative.

La méthode s'effectue en quatre étapes :

– Concentration par filtration sur une membrane de nitrate de cellulose (porosité de 3 μm).

– Dépôt du filtre, face filtrante sur une gélose non nutritive recouverte d'*Escherichia coli*.

– Incubation des boîtes à 30 °C pendant 10 jours.

– Observation au microscope pour détecter la présence des amibes libres sous formes végétatives ou enkystées.

Le dénombrement est effectué selon la méthode du nombre le plus probable (NPP). Elle permet de connaître la densité amibienne de l'échantillon. Pour cela, on relève le nombre de boîtes positives par volume filtré et le NPP est obtenu avec un intervalle de confiance d'autant plus faible que le nombre de réplicats est plus important.

Cette méthode ne permet pas leur identification des différents genres et espèces que peuvent exister.

■ Matériels et méthodes

□ Échantillonnage et conservation des échantillons

Le volume des échantillons d'eau à analyser est fonction de la qualité de l'eau. Les volumes recommandés sont pour :

– les eaux destinées à la consommation humaine : 4 L,

– les eaux de surface : 1 L.

L'acceptabilité des échantillons est liée aux conditions de prélèvement et de transport.

L'analyse est effectuée le jour de leur réception, et exceptionnellement dans un délai inférieur à 24 h à température ambiante (entre 10 et 20 °).

□ Matériel

– enceinte thermostatée à 30 °C ;
– vortex ;
– rampe de filtration en acier inoxydable, stériliser à la flamme ;
– pompe à vide ;
– bec Bunsen ;
– ciseaux ;
– pinces ;
– membranes de filtration en nitrate de cellulose (diamètre 47 mm-porosité 3 μm) ;
– boîtes de Pétri de 90 mm ;
– microscope inversé avec un objectif x10.

Milieux de culture

– Gélose « agar » (17 g d'agar pour 1 litre d'eau distillée), stériliser à l'autoclave pendant 10 minutes à 121 °C, couler 20 mL par boîte de Petri (9 boîtes d'agar pour une analyse).

– Gélose « cœur-cervelle » (37 g de cœur-cervelle + 15 à 20 g d'agar pour 1 litre d'eau distillée).

– Bouillon « cœur-cervelle » (37 g de cœur-cervelle pour 1 litre d'eau distillée, stériliser à l'autoclave pendant 10 minutes à 121 °C.

Souche

– Souche d'*Escherichia coli* MG1455 dans de l'eau distillée stérile conservée à +5 °C.

– Cultures d'*Escherichia coli* dans du bouillon cœur cervelle conservée à +5 °C.

Mode opératoire

– Préparation des cultures d'*Escherichia coli* sur gélose « cœur-cervelle » (3 géloses/analyse), pour cela, ensemencer 200 µL d'une suspension d'E. coli.

– Incubation à 36 °C pendant 24 h à 72 h en atmosphère aérobie humides.

– Étaler sur 9 Petri gélose « Agar », 1/3 d'une boîte d'*E. coli* préparé 72 h avant.

– Déposer à l'aide d'une pince les filtres en nitrate de cellulose sur chaque poste de filtration.

– Filtration suivant la nature de l'échantillon :

- cas d'une eau propre : 3 x 1 L, 3 x 100 mL, 3 x 10 mL,
- cas d'une eau brute : 3 x 100 mL, 3 x 10 mL, 3 x 1 mL.

– Découper chaque membrane filtrante en 2 à l'aide du ciseau.

– Déposer les 2 morceaux de chaque membrane, face filtrante contre la surface de la gélose recouverte au préalable d'une culture d'*E. coli.*

Sceller chaque boîte à l'aide du parafilm, puis les incuber à 30 °C pendant 10 jours maximum.

Chaque boîte est examinée à l'aide du microscope inversé, durant la période d'incubation :

– repérer les fronts amibiens ;

– observer la présence ou l'absence des formes végétatives et/ou de kystes d'amibes libres, puis signaler les boîtes positives par un + et les boîtes négatives par un – ;

– recenser le nombre de boîtes ;

– exprimer la quantité d'amibes libres présentes dans l'échantillon de départ en Nombre le Plus Probable (NPP) à l'aide de la table du NPP permettant de donner un résultat quantitatif, puis noter le résultat en NPP/le volume d'échantillon.

Expression des résultats

Les résultats quantitatifs sont exprimés en NPP par volume d'échantillon et ils se calculent grâce à la table du Nombre le Plus Probable, donnée par le tableau suivant, qui est tiré de la norme ISO/DIS 8199 du 24/02/2003, concernant le guide général pour le dénombrement des micro-organismes sur milieux de culture.

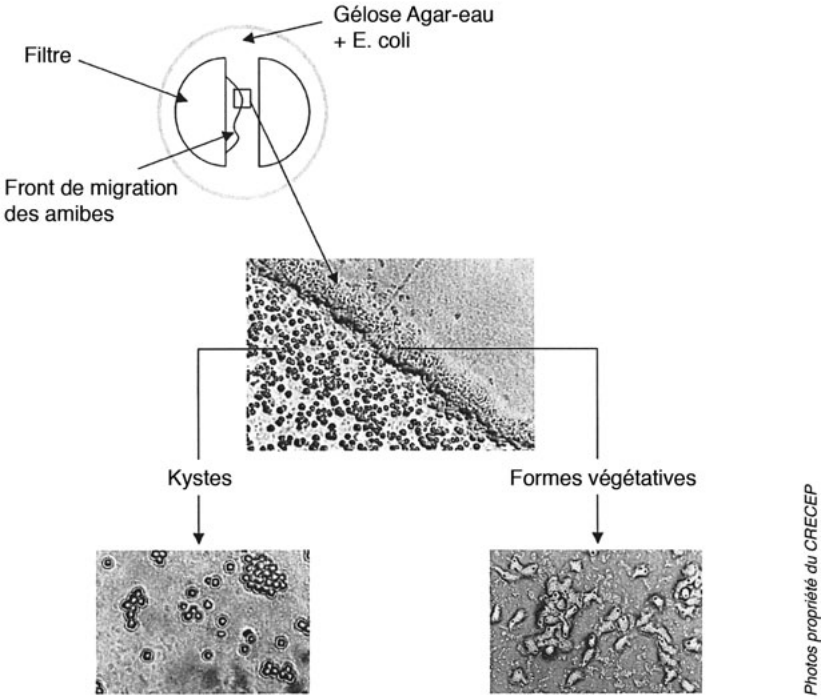
Ce tableau permet de donner les indices NPP pour 100 mL d'échantillon et limites de confiance à 95 % ; Il ne peut être utilisé que pour les diverses combinaisons de résultats positifs avec 3 prises d'essai de 10 mL, 3 de 1 mL et 3 de 0,1 mL :

Nombre de boîtes positifs			NPP	Limites de confiance à 95 %	
10 mL	1 mL	0,1 mL	/100 mL	Inférieure	Supérieure
0	0	1	3	< 1	9
0	1	0	3	< 1	13
1	0	0	4	< 1	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	48	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1 300
3	3	1	460	71	2 400
3	3	2	1 100	150	4 800

Explication du calcul en NPP/le volume de l'échantillon à l'aide d'un exemple

Si 3 boîtes sont positives à 1 000 mL, 2 boîtes à 100 mL et 1 boîte à 10 mL.

La table de NPP indique 3 – 2 – 1, ce qui correspond à 150 NPP/10 L d'échantillon analysé avec les limites de confiance 30-440. Il faut multiplier par un facteur de 100 pour obtenir la correspondance entre les volumes filtrés donnés par la table 10 – 1 – 0,1 mL et le volume réellement filtré, soit 1 000 – 100 – 10 mL, le résultat obtenu est NPP/10 L et non plus NPP/100 mL.



Amibes libres sous formes de kystes et sous formes végétatives. Grossissement x12,5 sous loupe binoculaire.

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre B-2

J. A. McCarty (1957). A storage of water sample for bacteriological examination. *Amer. J. Public Health*, 47, p. 971.

H. Leclerc, R. Buttiaux (1961). Survie des streptocoques fécaux dans les échantillons d'eaux stockées à + 4 °C, *Ann. Inst. Pasteur*, Lille, 12, p. 211.

J. H. Standridge, D. J. Lesar (1977). Comparaison of hour and twenty four hour refrigerated storage of non potable water for fecal coliform analysis. *Applied Environmental Microbiology*, 34, p. 398.

J. Vial, C. Geoffray (1980). Influence du délai de conservation des échantillons sur les dénombrements des indicateurs fécaux dans les eaux destinées à l'alimentation. *T.S.M.*, L'eau, 3, p. 110.

J. M. Delattre, C. Oger. Le prélèvement d'eau pour analyse microbiologique. Guide pour l'échantillonnage des eaux. Réseau national d'Essais, document n° 23, août 1992.

Chapitre B-3

M. H. McCrady :

— The numerical interpretation of fermentation tube results. *J. Infections Diseases*, 1915, 17, p. 163.

— Tables for rapid interpretation of fermentation tube results. *Can. Public Health J.*, 1918, 9, p. 201.

R. Moore (1948). *Monthy Bull. Minist. Health and Public Health.* Lab. Service, London, 7, p. 241.

R. Buttiaux (1951). *L'analyse bactériologique des eaux de consommation*. Éd. Médicales, Flammarion.

B. Moore, E. L. Perry, T. S. Chard (1952). A survey by the sewage swab method of latent enteric infection in an urban area, *J. Hyg. Camb.*, 50, p. 137.

S. Swaroop (1956). Estimation of bacterial density of water samples. (Methods of attaining international comparability). *Bull. OMS*, 14, p. 1089.

R. L. Woodward (1957). How probable in the most probable number. *J.A.W.W.A.*, 40, p. 1060.

Circulaire du 15 mars 1962 relative aux instructions générales concernant les eaux d'alimentation et la glace alimentaire. *J.O.* du 27 mars 1962 et rectificatif *J.O.* du 13 avril 1962.

Circulaire du 10 janvier 1969 relative aux instructions techniques pour la détermination de la pollution bactériologique des eaux superficielles. *J.O.* du 12 mars 1969.

X... The bacteriological examination of water supplies. *Report on Public Health and Medical Subjects* n° 71. Her Majesty's Stationnary Office, London, 1969.

J. C. de Man (1977). MPN tables for more than one test. *European J. Apl. microbiol.*, 5, p. 307.

Chapitre B-4

M.H. McCrady (1915). The numerical interpretation of fermentation tube results. *J. Infect. Dis.*, 17, p. 183.

W.J. Wilson, E.M. Blair (1924). The application of a sulphite glucose iron agar medium to the quantitative estimation of B. Weichil and the other reducing bacteria in water supplies. *J. Path. Bact.*, 27, p. 119.

J.K. Hoskins (1933). The most probable number of *E. coli* in water analysis. *J. Amer. Water Works Ass.*, 25, p. 867.

J. Archambault, J. Curot, M.H. MacCrady (1937). The need of uniformity of conditions for counting plates (with suggestions for a standard colony counter). *Amer. J. Publ. Health*, 27, p. 809.

W.L. Mallmann, E.B. Seligmann (1950). A comparative study of media for the detection of *Stretococci* in water and sewage. *Ann. J. Publ. Health*, 40, p. 286.

R. Buttiaux (1951). *L'analyse bactériologique des eaux de consommation*. Éd. Médicales Flammarion, Paris.

R. Buttiaux, G. Muchemble, T. Leurs (1953). La colimétrie de l'eau sur membranes filtrantes. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 84, p. 1010.

W. Litsky, W.L. Mallmann, C.W. Fifield (1955). A new medium for the the detection of *Enterococci* in water. *Ann. J. Publ. Health*, 45, p. 1049.

H. Beerens, G. Muchemble, J. Papavasilou (1956). Étude systématique des bactéries anaérobies sporulées et sulfito-réductrices isolées de 273 échantillons d'eaux de consommation. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 8, p. 150.

R. Buttiaux, J. Samaille, Y. Pierens (1956). L'dentification des *Escherichia coli* des eaux. Test d'Eijkman et production d'indol à 44 °C. Test IMVIC. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 8, p. 137.

L. Slanetz, M. Bartley (1957). Number of *Enterococci* in water, sewages and feces determined by the membrane filter technics with an improved medium. *J. Bact.*, 74, p. 591.

H. Leclerc, M. Carsaras (1958). Utilisation des membranes filtrantes dans la recherche des streptocoques fécaux des eaux d'alimentation. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 10, p. 193.

P. Sureau (1958). Recherche et numération des streptociques fécaux dans les eaux en utilisant les membranes filtrantes. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 95, p. 768.

Circulaire du 21 janvier 1960 relative aux méthodes d'analyses biologiques des eaux d'alimentation. *J.O.* du 15 mars 1960.

H. Beerens, M.M. Caster, H. Leclerc (1961). Contribution à l'étude des milieux au sulfite de sodium pour l'isolement des *Clostridium*. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 12, p. 183.

E.E. Geldreich, M.F. Clark, C.F. Huff, L.C. Best (1965). Fecal coliform organism medium for the membrane filter technique. *J.A.W.A.*, 57, p. 208.

E.E. Geldreich (1966). *Sanitary signifiance of fecal coliform in the environment*. W.P.C.R. series publication W.P. 20.3 (F.W.P.C.A. Cincinnati, Ohio, U.S.A.).

Circulaire du 10 janvier 1969 relative aux instructions techniques pour la détermination de la pollution bactériologique des eaux superficielles. *J.O.* du 12 mars 1969.

X... The bacteriological examination of water supplies (1969). *Report on Public Health and Medical Subjects* n° 71. Her Majesty's Stationnary Office, London.

M. Kilian, P. Bulow (1976). Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae*, I. Detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B*, 84, p. 245.

National Academy of Sciences (1977) : *Drinking water and health*, Washington D.C. 20418.

J. Vial, M. Langevin (1977). *Commission of the European Communities. Bacteriological analyses of drinking water. Report of a working group of experts*. EUR. 5694e.

M.J. Allen, E.E. Geldreich (1978). *Evaluating the microbial quality of potable waters. Evaluation of the microbiology standards for drinking water.* US Environmental Protection Agency.

C. Geoffray, J. Vial, M. Delagarde, C. Larderet, T. Trotemann (1979). Dénombrement des spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs par la méthode de filtration sur membrane. *Techniques Sciences Municipales* – L'eau, 74, p. 207.

W.O.K. Grabow, Martella Du Preez (1979). Comparison of *m*-Endo LES, MacConkey, and Teepol media of membrane filtration counting of total coliform bacteria in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, p. 351.

L. Le Minor (1979). Tetrathionate reductase, β glucuroronidase and ONPG-test in the genus

Salmonella. Zentralbi. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt, I. Orig. Reibe A, 243, p. 321.

Joint Committee of the Public Health Laboratory Service and the Standing Committee of Analysts (1980) : Membrane filtration media for the enumeration of coliforms organisms and *Escherichia coli* in water : comparison of Tergitol 7 and lauryl sulphate with Teepol 610. *J. Hyg. Camb.*, 78.

Joint Committee of the PHLS and the Standing Committee of Analysts (1980) : Single tube confirmatory tests for *Escharichia coli. J. Hyg. Camb.*, 85, p. 51.

P.C.S. Feng, P.A. Hartmann (1982). Fluorogenic assays for imediate confirmation of *Escherichia coli. Appl. Environ. Microbiol.*, 43, p. 1320.

R.S. Wentzel, P.E. O'Neill, J.F. Kitchens (1982). Evaluation of coliphage detection as a rapide indicator of water quality. *Appl. Environ. Microbiol.,* 43, p. 430.

H. Champsaur, A. Slim, D. Mathieu *et al.* (1983). Simple test for urological diagnosis of infection with enterotoxigenic *E. coli. Lancet*, I, p. 129.

B.J. Robinson (1984). Evaluation of a fluorogenic assay for detection of *Escherichia coli* in foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, p. 285.

J.D. Kennedy, G. Bitton., J.L. Oblinger (1985). Comparison of selective media for assay of coliphages in sewage effluent and lake water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, p. 33.

J.F. Hernandez, J.M. Guibert, J.M. Delattre, C. Oger, C. Charrière, B. Hugues, R. Serceau, F.Sinègre (1991). Miniaturized fluorogenic assays for enumeration of *E. coli* and *Enterococci* in marine water. *Water Sci. Tech.*, 24, (2), p. 137.

X... Coliphage detection (proposed) (1992). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*, p. 9-23, 9-24.

Chapitre B-5

L.E. Merck. Manuel de Microbiologie. Darmstadt. Allemagne.

G.H. Chapmann (1946). A single culture medium for selective isolation of plasma coagulating staphylococci and for improved testing of chromogenis, plasma coagulation, mannitol fermentation and the stone reaction. *J. Bact.*, 51, p. 409.

J.B. Evans (1948). Studies' of staphylococci with special reference to the coagulase positive types. *J. Bact.*, 55, p. 793

R. Hugh, E. Leifson (1953). The taxonomic signifiance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria. *J. Bact.*, 66, p. 24.

E.D. King, M.K. Ward, D.E. Raney (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin fluorescin. *J. lab. clin. Med.*, 44, p. 301-307.

E.J. Lowburry, A.G. Collins (1955). The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas pyocyanea. J. clin. Path.*, 8, p. 47-48.

J. Pochon, De Bayac (1956). *Traité de microbiologie des sols*. Applications agronomiques. Éd. Dunod.

J.F.D. Shrewsbury, G.J. Barson (1957). On the absolute viability of certain pathogenic bacteria in a synthetic well water. *J. Path. Bact.*, 74, p. 215.

M.E. Rhodes (1959). The caracterization of *Pseudomonas fluorescens*. *J. gen. Microbiol.*, 21, p. 221-263.

M.S. Fayero, C.H. Drace, C.G. Kandall (1961). Use of staphylococci as indicators of swimming pool pollution, *Public. Health Rep.*, 79, p. 61.

J. Pochon, P. Tardieu (1962). *Techniques d'analyses en microbiologie des sols*. Collection « Techniques des base ». Éd. de la Tourelle, Saint-Mandé.

C.H. Drake (1965). Evaluation of culture media for the isolation and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa. Health lab. Sci.*, 3, p. 10-19.

J.R. Postgate (1965). Recent advances in the study of sulfate-reducing bacteria. *Bact. Rev.*, 59, p. 425-441.

H.L. Smith (1965). Proceedings of the cholera research symposium. *P.H.S. Pub.*, p. 1328.

S.L. Diesch, W.F. McCulloch, J.L. Braun, H.C. Ellinghausen (1966). Leptospires isolated from frog kidneys. Nature, 209, p. 939.

J. R. Postgate, L. L. Campbell (1966). *Classification of desulfovibrio species*, the nonsporulating sulphate-reducing bacteria. *Bact. Rev.*, USA, 30, p. 732-738.

R. Y. Stanier, N. Y. Palleroni, M. Doudoroff (1966). The aerobie *Pseudomonas*: a taxonomic study. *J. gen. Microbiol.*, 43, p. 159.

R. C. Johnson, V. C. Harris (1967). Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospires. *J. Bacteriol.*, 94, p. 27.

H. Leclerc, C. Savage (1967). Étude et contrôle bactériologique des eaux de piscine. *Rev. Hyg. Méd. Sociale*, 1967, 15, p. 503.

J. C. Senez (1968). *Microbiologie générale*. Éd. Doin-Deren et Cie.

D. F. Tœrien, P. G. Thiel, M. M. Hattingh (1968). Enumeration, isolation and identification of sulfate-reducing bacteria of anaerobic digestion. *Water Research*. Pergamon press, 2, p. 505-513.

D. D. Mara, D. J. A. Williams (1970). The evaluation of media used to enumerate sulphate-reducing bacteria. *J. appl. Bact.*, 33, p. 543-552.

A. Morez (1971). *Vibrions sulfato-réducteurs et corrosions biologiques*. Mémoire. Université de Lille. Faculté des Sciences.

D. A. A. Mossel, L. Indacochea (1971). A new cetrimide medium for the detection of *Pseudomonas aeruginosa. Journal of Medical Microbiology*, 4, p. 380-382.

E. Bretter (1972). Étude sur les actinomycètes, causes d'un certain goût et d'odeur dans les installations centrales d'approvisionnement en eau. Tribune de CEBEDEAU, 25, p. 338.

E. Geldreich (1972). *Water born pathogens in water pollution microbiology*, Ed. Ralph Michel.

J. Lassen (1972). *Yersinia enterolitica* in drinking water. *Scand. J. Infect. Dis.*, 4, p. 125.

M. A. Levin, J. Cabelli (1972). Membrane filter technique for enumeration of *Pseudomonas aeruginosa. Appl. Microbiol.*, 24, (6), p. 864-870.

C. E. Hour, H. Leclerc (1973). Dénombrement des actinomycètes aérobies de l'eau. *Ann. Microbiol.*, Inst. Pasteur, 124 B, p. 533-546.

G. Wauters (1973). Improved method for the isolation and the recognition of *Yersinia enterolitica*. in Winblad S. (Ed.) *Contributions to microbiology and immunology*. Vol. 2: *Yersinia Pasteurella* and *Francisella*. Karger, Basel, p. 68-70.

J. Labonde (1974). Communication personnelle sur la méthode de recherche du vibrion cholérique, utilisée au laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris.

J. Eiss (1975). Selective culturing of *Yersinia enterolitica* at low temperature. *Scand. J. Infect. Dis.*, 7, p. 249.

A. K. Highsmith, R. L. Abshire (1975). Evolution of a most probable number technique of the enumeration of *Pseudomonas aeruginosa. Appl. Microbiol.*, 36, (4), p. 596-601.

S. Harvey, J. R. Greenwood, M. J. Pickett, A. M. Mah (1976). Recovery of *Yersinia enterolitica* from streams and lakes in California. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, p. 383.

P. Nicolle, H. H. Mollaret, J. Brault (1976). Nouveaux résultats sur la lysotopie de Y*ersinia enterolitica* portant sur plus de 4 000 souches d'origines diverses. *Rev. Epidem. Santé Publ.*, 24, p. 479.

T. Caprioli, A. J. Drapeau, S. Kasatiya (1977). *Yersinia enterolitica*: serotypes and biotypes isolated from human and the environmental in Quebec, Canada. *J. Clin. Microbiol.*, 8, p. 7.

A. K. Highsmith, J. C. Feeley, P. Skaly, J. C. Wells, B. T. Wood (1977). Isolation of *Yersinia enterolitica* from well water and growth in distilled water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34, p. 745.

P. L. Courrier (1978). *Les leptospiroses da,s les régions Rhône-Alpes et Bourgogne Franche-Comté de 1972 à 1977 à propos de 150 cas. Étude épidémiologique, chimique et biologique. Thèse doct. Médecine*, Lyon.

M. Knill, W. G. Suckling, A. D. Pearson (1978). Environmental isolation of heat tolerant *Campylobacter* in the Southampton area. *The Lancet*, 4, XI, p. 1002.

D. A. Schiemann (1978). Isolation of *Yersinia enterolitica* from surface and well waters in Ontario. *J. Clin. Microbiol.*, 24, p. 1046.

C. B. Fliermans, W. B. Cherry, L. H. Orrison, L. Thacker (1979). Isolation of *Legionella pneumophila* form nonepidemic-related aquatic habitats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37, p. 1239.

J. Labonde, B. Festy (1979). Bilan d'une recherche systématique de *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux de consommation. *Revue de l'Institut Pasteur de Lyon*, 12, p. 507-518.

G. Gaillou (1980). Étude du risque épidémiologique vis-à-vis des leptospiroses dans une collectivité de plongeurs de la région Rhône-Alpes. Thèse Doct. Médecine, Lyon.

M. Mailloux (1980). *Leptospiroses et Environnment, Revue Epidem. et Santé Publ.*, 28, p. 323.

W.H.O. Scientific Working Group (1980) : Enteric infections due to *Campylobacter, Yersinia, Salmonella and Shigella*. Bulletin of the *W.H.O.*, 58, p. 519.

P.A.D. Grimont, H. Bercovier (1980). Aspects cliniques, épidémiologiques et bactériologiques des légionelloses. *Bull. Inst. Pasteur Lille*, 78, p. 267.

W. Van Pee, J. Stragier, L. Boni (1980). *Yersinia* stains isolated from river water : biochemical, serological and phage typing characteristics. *Current microbiol.*, 4, p. 17.

H. Bercovier, D.J. Brenner, J. Ursing, A.G. Steigerwalt, G.R.Fanning, J.M Alonso, G.P. Carter, H.H. Mollaret (1980). Characterization of Yersinia enterolitica. *Current microbiol.*, 4, p. 201.

L.V. Soltesz, C. Schalen, P.A. Mardh (1980). An effective, selective medium for *Yersinia enterolitica* containing sodium oxalate. *Acta path. Microbiol. Scand. Sec. B*, 88, p. 11.

W.H.O. Scientific Working Group (1980) : Enteric infections due to Campylobacter, Yersinia, Salmonella and Shigella. *Bulletin on the W.H.O.*, 58, p. 519.

T.C. Thorpe, R.D. Miller (1980). Negative enrichment procedure of isolation of *Legionella pneumaphila* from seeded coolingtower water. *Appl. Environ. Microbial.*, 40, , p. 849.

C.A. Bopp, J.W. Summer, G.K.Morris, J.G. Wells (1981). Isolation of *Legionella* spp. from environmental water samples by low-*p*H treatment and use of a selective medium. *J. Clin. Microbiol.*, 13, p. 714.

L. Cian, J. Devoucoux (1981). Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau : méthodologie d'application à l'analyse bactériologique des causes de rivière. *Journal Français d'Hydrologie*, 12, p. 195-212.

J. Fleurette, N. Bornstein (1981). Diagnostic bactériologique et sérologique de la maladie des légionnaires. *Revue de Médecine thérapeutique*, 22, p. 1409.

C.B. Fliermans, W.B. Cherry, L.H. Orrison, S.J. Smith, D.L. Tison, D.H. Pope (1981). Ecological distribution of *Legionella pneumophila. Appl. Environ. Microbiol.*, 41, p. 9.

L.H. Orrison, W.B. Cherry, D. Milan (1981). Isolation of *Legionella pneumophila* from cooling tower water by filtration. *Appl. Environ. Microbiol.,* 41, p. 1202.

P. Quenin, G. Loupi, M. Cloppet (1981). Technique immuno-enzymatique (enzyme linked immunosorbent assay), ELISA, applilquée au diagnostique des leptospires, *Rev. Inst. Pasteur de Lyon*, 14, p. 581.

K.K. Kristensen (1982). Démonstration of leptospires in « *Examination of water for pollution control. A reference handbook* ». Ed. by M. Suess, W.H.O. regional office for Europe, Copenhagen, 3, p. 448.

J. Stout, V.I. Yu, R.M.Vickers, J.Zuravleff, M. Best, A. Brown, R.B. Yee, R. Wadowsky (1982). Ubiquitousness of *Legionella peumophila* in the water supply of hospital with endemic legionnaire disease. *N. Eng. J. Med.*, 306, p. 466.

Chapitre B-6

B. Sarrette, C. Danglot, R. Vilagines (1977). A new method permitting the quantitative determination of virus present in surface waters. C R Acad. Sci. Hebd. Seances, *Acad. Sci. D.*, 285, (15), p. 1359-1361. French.

B. Sarrette, C. Danglot, R. Vilagines (1977). A new and simple method for récupération of enterovirus from water. *Water Res.*, 11, p. 355-358.

J.C. Block, J.C. Joret, M. Morlot, J.M. Foliguet (1978). Recherche des enterovirus dans les eaux superficielles par adsorption-élution sur microfibres de verre. *T.S.M.*, l'eau, 3, p. 181-184.

M. Plissier (1981). Étude expérimentale de diverses méthodes d'extraction des virus des eaux. Thèse de Doctorat d'État en Biologie Humaine, Université de Montpellier.

D.D. Markwell, K.F. Shortridge (1982). Possible waterborne transmission and maintenance of influenza viruses in domestic ducks. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, (1), 110-115.

S. Ouvrard, C. Coiron, J. Prevot, B. Festy (1982). Bilan d'une surveillance virologique systématique des eaux résiduaires en région parisienne. *T.S.M.* l'eau, 8-9, p. 427-433.

H. Champsaur (1984). *Virus des gastro-entérites* ; Reo- et Rotavirus. Virologie Médicale, J. Maurin. Éd. Flammarion.

G.D. Lewis, T.G. Metcalf (1988). Polyethylene glycol precipitation for recovery of pathogenic viruses, including hepatitis. A virus and human rotavirus, from oyster, water, and sediment samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, (8), p. 1983-1988.

P. Vilagines, B. Sarrette, R. Vilagines (1988). Détection en continu du poliovirus dans les eaux de distribution publique. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 307, p. 171-176.

X... Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chiamydial infections (1989). Schmidt N.J. Emmons RW. American Public Health Association, Washington DC.

E. Lenette, N. Schmidt (1989). Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections. *American Public. Health Association*, New York.

J.C. Block, L. Schwartzbrod (1992). *Analyse virologique des eaux*. Techniques de mise en évidence des virus humains. Lavoisier Édit., Paris.

K. Mullis, F. Faloona, S. Scharf, R Saiki, G. Horn, H. Erlich (1992). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Biotechnology. 24, p. 17-27. c.f. 1986.

H. Champsaur, M. André, B. Hugues (1993). Détection des virus dans les effluents par une nouvelle méthode de concentration sur laine de verre. Comparaison avec la méthode de concentration sur poudre de verre. *Journ. Fr. d'Hydrol.*, 24, p. 29-40.

P. Vilagines, B. Sarrette, F. Husson, R. Vilagines (1993). Glasswool for virus concentration at ambiant water *p*H level. *Wat. Sci. Tech.*, 27, p. 299-306.

H. Champsaur, M. André, J.L. Plantat, B. Hugues (1994). Recherche de virus dans les eaux de baignade en mer et corrélation avec les indicateurs bactériens de contamination fécale. *Journ. Fr. d'Hydrol*.

S. Skraber, B. Gassilloud, L. Schwartzbrod, C. Gantzer (2004). Survival of infectious Poliovirus-1 in river water compared to the persistence of somatic coliphages, thermotolerant coliforms and Poliovirus-1 genome. *Water Res.*, 38, (12), p. 2927-2933.

S.A. Rutjes, R. Italiaander, H.H. van den Berg, W.J. Lodder, A.M. de Roda Husman (2005). Isolation and detection of enterovirus RNA from large-volume water samples by using the NucliSens miniMAG system and real-time nucleic acid sequence-based amplification. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, (7), p. 3734-3740.

AFSSA (février 2007) – Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale.

A.K. Da Silva, J.C. Le Saux, S. Parnaudeau, M. Pommepuy, M. Elimelech, F.S.Le Guyader (2007). Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment, using real-time reverse transcription-PCR: different behaviors of genogroups I and II. *Appl. Environ. Microbiol.*,

73, (24), p. 7891-7897.

Chapitre B-7

DWI (drinking water inspectorate).

A.M. Grimason, H.V. Smith, J.F.W. Parker, Z. Bukhari, A.T. Campbell, L.J. Robertson. Application of DAPI and immunofluorescence for enhanced identification of *Cryptosporidium* spp oocysts in water samples. *Water Research*, 28, (3), p. 733-736.

Norme NF T90-455 (juillet 2001). Recherche et dénombrement d'oocystes de *Cryptosporidium* et de kystes de *Giardia*.

AFSSA, 2002. Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques associés à Cryptosporidium sp.. AFSSA, 185 p., http://www.afssa.fr/Documents/EAUX-Ra-Crypto.pdf.

P.T. Klonicki, M.M. Marshall, B.H. Jost, B.L. Clay, C.R. Sterling (2002). Immunomagnetic separation (IMS)-fluorescent antibody detection and IMS-PCRdetection of seeded *Cryptosporidium* parvum oocysts in natural waters and theirlimitations.Sturbaum GD,. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, (6), p. 2991-2996.

S.C. Weir, N.J. Pokorny, R.A. Carreno, J.T. Trevors, H. Lee (2002). Efficacy of Common Laboratory Disinfectants on the Infectivity of *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Cell Culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, (5), p. 2576–2579.

Les protozoaires : Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada (Health Canada Avril 2004).

AFSSA, 2005. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. Rapport du groupe de travail " Toxoplasma gondii " de l'AFSSA. AFSSA, 328 p., http://www.afssa.fr/ftp/afssa/34487-34488.pdf.

US-EPA method 1622 1623 dec 2005.

P. Karanis, C. Kourenti, H. Smith (2007). Waterborne transmission of protozoan parasites : a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J. Water Health*, 5, (1), p. 1-38.

C. Mons, A. Dumètre, S. Gosselin, C. Galliot, L. Moulin (2008). Monitoring of *Cryptosporidium* and *Giardia* river contamination in Paris area Water Res. [Epub ahead of print].

Chapitre B-8

J. Winiecka-Krusnell, E. Linder (1999). « Free-living amoebae protecting *Legionella* in water: the tip of an iceberg ? ». *Scand. J. Infect. Dist.*, 31, (4), p. 383-385.

M. V. Storey, J. Winiecka-Krusnell, N. J. Ashbolt, T. A. Stenström (2004). The efficacy of heat and chlorine treatment against thermotolerant Acanthamoebae and Legionellae. *Scand. J. Infect. Dis.*, 36, (9), p. 656-662.

J. F. Loret, M. Jousset, S. Robert, G. Saucedo, F. Ribas, V. Thomas, G. Greub (2008). Amoebae-resisting bacteria in drinking water: risk assessment and management. *Water Sci Technol.*, 58, (3), p. 571-577.

C

Les indicateurs biologiques de la qualité des eaux

1 • ÉVALUATION BIOLOGIQUE DE LA QUALITÉ DES EAUX

Le compartiment aquatique continental joue un rôle fondamental dans l'environnement : de sa qualité dépend le maintien de la vie animale comme de la vie humaine.

Si les outils chimiques et microbiologiques sont souvent au cœur du dispositif de surveillance des eaux, les méthodes biologiques prennent une place de plus en plus importante dans la mise en œuvre des plans de gestion des milieux aquatiques. Mises en exergue par de nouvelles exigences de qualité souvent associées à un renforcement de la réglementation (Directive Cadre Européenne, Directive REACH…), ces méthodes biologiques peuvent fournir aux professionnels des critères de gestion essentiels.

Qu'il s'agisse des indices biologiques ou des tests de toxicité, ces méthodes ont connu un important développement au cours de la dernière décennie et sont de plus en plus requises pour répondre à un large éventail de problématiques :

– évaluer la qualité des milieux aquatiques,

– protéger la qualité des ressources en eau,

– réduire les rejets de substances prioritaires les plus dangereuses,

– apporter de nouvelles connaissances scientifiques sur les risques associés à l'utilisation de molécules potentiellement toxiques, dans l'agriculture (pesticides par exemple) ou dans l'industrie,

– évaluer les risques d'un rejet (effluent urbain ou industriel, eaux de refroidissement, eaux pluviales…) sur le milieu naturel.

1.1 Cadre réglementaire

La directive cadre européenne sur l'eau (DCE) adoptée par le Parlement Européen et le Conseil le 23 octobre 2000 (directive 2000/60/CE) établit un cadre juridique et réglementaire pour poser les bases d'une politique communautaire dans le domaine de l'eau. Elle fixe comme objectif principal d'atteindre le « bon état » écologique et chimique d'ici 2015 pour tous les milieux aquatiques naturels et impose le principe de non dégradation de l'existant. La DCE demande la réalisation d'un plan de gestion accompagné d'actions concrètes avec une logique d'obligation de résultats. La prise en compte accrue du bon état écologique des milieux aquatiques et l'obligation de résultats imposée aux états membres représentent les avancées majeures de cette directive.

Cette directive a été transposée en droit français le 21 avril 2004 (Loi n° 2004-338) et ses préconisations sont reprises dans la nouvelle loi sur l'eau et les milieux aquatiques (dite LEMA) du 30 décembre 2006 (Loi 2006-1772).

Pour répondre aux objectifs fixés par ces lois, il est nécessaire de disposer d'outils analytiques permettant d'identifier les indicateurs de qualité les plus pertinents pour évaluer l'état écologique des masses d'eau et d'établir des valeurs de référence pour ces différents indicateurs.

D'autre part la nouvelle réglementation européenne REACH (*Registration, Evaluation, Autorisation and Restriction of Chemical substances*) publiée le 18 décembre 2006 (directive 1907/2006) a pour objectif de mieux protéger l'homme et l'environnement contre les risques que peuvent poser les nombreux produits chimiques actuellement enregistrés dans l'union européenne. Entrée en vigueur le 1er juin 2007, cette directive demande d'évaluer et de gérer les risques posés par ces produits chimiques et de fournir des informations de sécurité adéquates à leurs utilisateurs. Elle prévoit également la recherche de méthodes d'essai alternatives, ainsi qu'une évaluation toxicologique des substances existantes et en émergence.

1.2 Évaluation de l'état écologique des eaux

Parallèlement aux paramètres physico-chimiques et chimiques classiques, le programme de surveillance de la qualité des eaux prend en compte des paramètres biologiques, destinés à évaluer la qualité du fonctionnement des écosystèmes aquatiques.

Le diagnostic de l'état écologique se fonde principalement sur des éléments de qualité biologique. Il a pour objectif de relier un effet biologique à une cause (pollution industrielle, urbaine, agricole) et d'évaluer l'impact de cette pollution sur le milieu. Mais les données concernant la qualité biologique permettent également de classer les eaux suivant la valeur de leurs paramètres de qualité et d'établir des règles de gestion objectifs de conservation, de réhabilitation ou de restauration des cours d'eau. L'altération du milieu pouvant avoir des causes multiples, il existe de très nombreux critères pour apprécier la qualité biologique des eaux.

Pour les programmes de contrôle et de surveillance de la qualité des milieux et pour établir des classifications biologiques des eaux, de nombreux pays utilisent des systèmes reposant sur l'évaluation des communautés de macro-invertébrés benthiques. Mais il existe de nombreuses autres méthodes pour mesurer cette qualité biologique, faisant appel par exemple à des poissons, des crustacés, des macrophytes, des diatomées… Ces méthodes biologiques sont en plein développement et leur nombre et la variété des indicateurs choisis a fortement augmenté au cours de la dernière décennie. Leur principe est toujours sensiblement le même : l'étude de la variété des taxons présents, de leur assemblage et de la présence ou l'absence de certains groupes polluo-sensibles donne une indication sur la qualité des milieux.

De nombreuses méthodes de biosurveillance de la qualité des eaux ont été validées et dans de nombreux cas elles ont fait l'objet d'une standardisation. Elles seront développées dans ce chapitre.

L'étude *in situ* des communautés biologiques de l'écosystème aquatique conduit à l'établissement d'un « état des lieux » du fonctionnement de cet écosystème à un instant donné. L'assemblage des différentes communautés aquatiques (vertébrés, invertébrés, algues, etc.) est dynamique et susceptible de se modifier plus ou moins rapidement et plus ou moins irréversiblement suivant les variations de la qualité du milieu.

Ces indices donnent un aperçu global de l'impact d'une modification du milieu sur les populations d'organismes, même après que le flux polluant soit passé. En effet, les organismes aquatiques, à différents degrés, réagissent spécifiquement aux stress auxquels ils sont soumis, soit par une réaction aiguë (mortalité par exemple), soit par une réaction chronique ou à moyen terme (impact sur la reproduction, cancérogénèse, etc.), ou encore par bioaccumulation, biotransformation ou détoxification, suivant leurs caractéristiques biologiques (mode d'alimentation, de respiration, etc.), leur position dans la chaîne alimentaire (producteurs, consommateurs primaires ou secondaires), ou encore de leur stade de développement (larve, adulte). Le suivi de l'ensemble des différentes populations d'organismes dans le temps donnera des indications sur l'évolution de la qualité du milieu (dégradation ou restauration).

La présence dans les eaux de biomasse végétale planctonique (chlorophylle et phéopigments permet une autre évaluation de la qualité biologique des milieux. En effet, le plancton végétal (constitué majoritairement d'organismes photosynthétiques) représente le premier maillon biologique des chaînes alimentaires des écosystèmes aquatiques.

1.3 Écotoxicologie en milieu aquatique

L'écotoxicologie en milieu aquatique s'est développée depuis environ 30 ans pour faire face aux atteintes des milieux aquatiques générés par les activités anthropiques. Cette science se donne pour objectif d'étudier le comportement et les effets des polluants dans les écosystèmes. Elle s'appuie évidemment sur la détection des traces de pollution par des méthodes chimiques (analyses globales ou spécifiques), mais elle fait largement appel à des méthodes biologiques d'évaluation. Dans ce cadre, les tests écotoxicologiques (ou bioessais), qui permettent d'évaluer la toxicité d'un milieu sur une espèce, occupent une place prépondérante.

Les tests de toxicité de laboratoire, ou « bioessais », représentent un autre type d'approche de l'évaluation de l'impact d'un rejet dans le milieu aquatique. La complexité du fonctionnement des écosystèmes aquatiques, évoquée plus haut, fait qu'ils ne sont actuellement pas aisément reproductibles ou modélisables en laboratoire. De nos jours, les laboratoires prestataires de services, ainsi que les organismes officiels, se sont orientés vers l'obtention de données issues d'essais standardisés, comparables d'un laboratoire à l'autre, et réalisés sur plusieurs espèces différentes. Une telle démarche n'a pas pour objectif de modéliser ce qui pourrait avoir lieu dans

l'environnement, et les résultats qui en sont issus ne doivent pas être interprétés dans ce sens. Son objectif est d'obtenir, à des coûts acceptables et dans des délais raisonnables, des informations fiables sur un rejet ou une substance susceptible de contaminer l'environnement. Le nombre des essais normalisés répondant à cette demande augmente régulièrement.

Les critères de toxicité varient suivant les organismes testés : mobilité, croissance, létalité, biomasse produite, luminescence, etc. Suivant l'effet mesuré et la durée de l'essai par rapport au cycle de vie des organismes, on définit des essais de toxicité aiguë (de quelques minutes à quelques jours), et des essais de toxicité chronique (sur plusieurs cycles de reproduction).

Certains de ces essais ont été adaptés à la surveillance en continu de la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine. Il s'agit de stations d'alerte intégrées en amont des stations de traitement d'eau potable, basées sur l'observation de la réaction d'organismes d'essais.

D'autres approches sont développées en laboratoire. Elles consistent à prélever dans le milieu aquatique des espèces « sentinelles » reconnues pour leur aptitude à révéler une pollution donnée (espèces bioindicatrices) ou à accumuler cette pollution (espèces bioaccumulatrices).

Ces organismes sont ensuite utilisés pour évaluer l'existence d'un risque chronique sur les populations. Pour cela, des dosages biologiques (pouvoir d'induction, enzymes, examens histologiques) ou chimiques peuvent, par exemple, être pratiqués sur des organes cibles (foie, reins, cerveau, muscles, etc. pour le poisson), ou sur les organismes entiers (bryophytes). Des teneurs anormales en contaminants (métaux, composés organiques tels que PCB, etc.) observées dans les organes seront des indicateurs d'une pollution et d'un risque à moyen terme pour l'équilibre des populations, voire pour l'être humain en cas de consommation.

Une méthode en cours de validation consiste ainsi à mesurer l'activité enzymatique éthoxyrésorufine-O-dééthylase (ÉROD) sur des poissons pour servir de marqueur biologique de la contamination des milieux aquatiques par des composés tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou certains composés organohalogénés (Norme XP ISO/TS 23893-2 de Décembre 2007).

Ces approches plus innovantes et parfois plus complexes relèvent encore souvent du domaine de quelques laboratoires spécialisés et ne seront pas développées ici.

Méthodes de référence

Directive 2000/60/CE du Parlement Européen du 23 octobre 2000.

Directive 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH).

Circulaire DCE 2005/12 du 28 juillet 2005 : relative à la définition du bon état et constitution des référentiels pour les eaux douces de surface (cours d'eau, plans d'eau).

Circulaire DCE 2006/16 du 13 juillet 2006 : relative à la constitution et la mise en œuvre du programme de surveillance pour les eaux douces de surface.

Circulaire DCE 2007/20 du 5 mars 2007 : relative à la constitution et la mise en œuvre du programme de surveillance pour les eaux littorales.

Circulaire DCE 2007/22 du 11 avril 2007 : relative au protocole de prélèvement et de traitement des échantillons d'invertébrés pour la mise en œuvre du programme de surveillance des cours d'eau.

Circulaire DCE 2007/23 du 7 mai 2007 : définissant les « normes de qualité environnementale provisoires (NQEp) » des 41 substances impliquées dans l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau ainsi que les substances pertinentes du programme national de réduction des substances dangereuses dans l'eau et définissant les objectifs nationaux de réduction des émissions de ces substances.

Circulaire DCE 2007/24 du 31 juillet 2007 : relative à la constitution et à la mise en œuvre du programme de surveillance (contrôles opérationnels pour les eaux douces de surface (cours d'eau, canaux et plans d'eau).

Loi n° 2004-338 du 21 avril 2004, consolidée le 22 avril 2004 : portant transposition de la directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

Loi 2006-1772 du 30 décembre 2006. Loi sur l'eau et les milieux aquatiques (LEMA). *Journal Officiel de la République Française*. 31 décembre 2006.

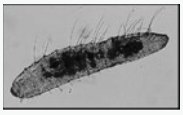
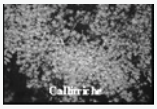
2 • LES INDICES BIOLOGIQUES

Les animaux et les végétaux qui colonisent les milieux aquatiques possèdent des exigences diverses vis-à-vis de ce milieu. Certains organismes vivants pourront ainsi être sensibles à des variations de pH, de température, à des modifications du contexte nutritionnel (composés minéraux ou matière organique, éventuellement présents à l'état de traces). Ces organismes sont donc susceptibles de réagir aux modifications du milieu aquatique et peuvent alors servir d'indicateur de la perturbation existante (pollution).

Ces indicateurs biologiques sont à l'origine de l'émergence de méthodes standardisées basées sur l'étude de la présence de certaines espèces indicatrices ou de la richesse du milieu (nombre d'espèces) en certains organismes spécifiques.

Si l'indice biologique global normalisé (IBGN) est l'indice biologique le plus ancien et de loin le plus utilisé, de nouveaux indicateurs de pollution sont disponibles à ce jour : ils concernent les diatomées, des macrophytes, des poissons ou encore des oligochètes (voir tableau ci-dessous).

Les principaux indices biologiques utilisés

Indice	Groupe faunistique ou floristique étudié	Notation	exemple d'organisme
IBGN Indice Biologique Global Normalisé	Macroinvertébrés	Note de 0 à 20 *Une note supérieure ou égale à 17 représente une eau très bonne qualité*	
IBGA Indice Biologique Global Adapté aux grands cours d'eau		Listes faunistiques par substrat ou par groupe de substrat	
IBD Indice Biologique Diatomées	Diatomées	Note de 0 à 20 *une note supérieure ou égale à 17 représente une très bonne qualité*	
IOBS Indice Oligochètes de Bioindication des Sédiments	Oligochètes	Note de 0 à 10 *une note supérieure à 6 représente une très bonne qualité*	
IBMR Indice Biologique Macrophytique en Rivière	Flore aquatique	Note de 0 à 14 (ou plus) *une note supérieure à 14 représente une très bonne qualité (eutrophisation très faible)*	
IPR Indice Poisson Rivière	Poissons	Note de 0 à 36 (ou plus) *Plus la valeur de l'indice est élevé plus la qualité est dégradée*	

2.1 Indice biologique global normalisé (IBGN)

Les peuplements de macro-invertébrés récoltés de façon standard dans une station fournissent des indications sur la qualité du milieu par la présence et l'absence de groupes faunistiques *indicateurs*. Ces groupes sont choisis en fonction de leur sensibilité aux pollutions aussi bien organiques que physico-chimiques, mais aussi à toute perturbation naturelle ou artificielle du milieu. De plus la *richesse* en espèces, appréhendée également de façon standard, permet d'évaluer la complexité de la communauté vivante. Ces deux aspects, dépendant de la valeur écologique et de la richesse du peuplement, sont résumés par une note chiffrée, d'autant plus élevée que le milieu est plus apte à entretenir un nombre plus important d'espèces de façon durable, donc exempt de perturbations (polluantes ou non). Il ne s'agit donc pas d'indices de pollution, mais plutôt d'*indices de qualité du milieu*, dont le niveau normal dépend du type de cours d'eau envisagé. Il est donc très important d'avoir à sa disposition une station de référence non polluée, de mêmes caractéristiques physiographiques, souvent en amont, si on veut tirer des conclusions certaines concernant le degré de perturbation.

Appliquée à un site d'eau courante considéré isolément, la méthode permet d'en situer la qualité biologique globale dans une gamme typologique générale exceptée la zone des sources, certains cours inférieurs des grands cours d'eau et les milieux atypiques tels que les canaux et les zones estuariennes.

Appliquée comparativement (par exemple en amont et en aval d'un rejet), la méthode permet d'évaluer, dans les limites de sa sensibilité, l'effet d'une perturbation sur le milieu récepteur.

■ Principe

La détermination de l'IBGN se fait par prélèvement de la macrofaune benthique (taille > 500 μm) par station (*) en suivant un protocole d'échantillonnage représentatif des différents types d'habitats (nature du support, vitesse du courant), puis par le tri et l'identification des taxons (**). La valeur de l'IBGN est déterminée à l'aide d'un tableau affectant une valeur de 1 à 20 en fonction des taxons indicateurs et de leur variété.

> Un nouveau protocole (normalisation en cours) est décrit dans le texte de la circulaire DCE 2007/22 du 11 avril 2007. Il reprendra pour partie la méthodologie décrite ci-dessous pour les Indices macro invertébrés (§ C-2.2).

□ Matériel spécial

– 1 épuisette de type Surber possédant une surface de base de 0,05 m^2 et des mailles de 500 μm (à maintenir contre le fond pierreux du cours d'eau, accessible à pied, si le courant est supérieur à 20 cm/s) (voir schéma ci-dessous).

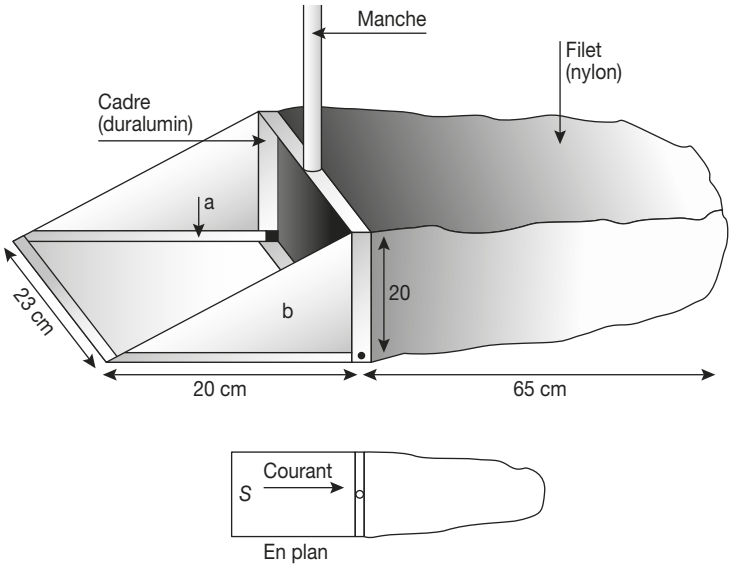
– Boîtes étanches avec formol à 10 % pour la conservation avant tri et détermination des organismes.

(*) station : une station au sens hydrobiologique correspond à un tronçon de cours d'eau dont la longueur doit être à peu près égale à 10 fois la largeur du lit mouillé au moment du prélèvement.

(**) taxon : c'est l'unité systématique de détermination retenue pour cette méthode (famille, ordre, embranchement ou classe).

– 1 loupe binoculaire (pas de préparation spéciale des organismes).

– 1 ouvrage d'identification des macro-invertébrés d'eau douce (famille, rarement genre).



Épuisette de Surber

Une armature métallique articulée (a) délimite une surface *S* de récolte de 0,05 m^2 et des ailes latérales (b) en toile évitent que les organismes soient entraînés latéralement hors du filet. Le décapage au pied de la surface de récolte *S*, puis le lavage ou brossage à la main des cailloux et de la végétation devant le filet, provoquent l'entraînement par le courant des organismes et des fins débris dans le filet. Le filet de nylon a un vide de maille de 0,5 mm.

☐ **Réactifs**

Formol (= formaldéhyde ou aldéhyde formique) : solution commerciale à environ 40 %.

Échantillonnage

Établir l'IBGN par station, c'est-à-dire pour un tronçon de cours d'eau dont la longueur est 10 fois supérieure à celle du lit mouillé lors du prélèvement.

Il est préférable de réaliser les prélèvements après au moins 10 jours de débit stable.

Pour une station, l'échantillon de faune benthique est constitué de huit prélèvements (volume prélevé pour les substrats meubles : de 0,5 à 1 L) effectués séparément dans huit habitats distincts parmi les combinaisons définies dans le tableau 1 à remplir pour chaque station en privilégiant les zones à vitesse de courant élevées. L'ensemble des huit prélèvements doit donner une vision représentative du milieu étudié en respectant la diversité des habitats. Chaque habitat est caractérisé par un couple support-vitesse (S-V).

Chaque prélèvement est fixé immédiatement par addition de formol à 10 %.

Les catégories de support sont recherchées dans l'ordre donné par le tableau 1 et en privilégiant les habitats les plus hospitaliers pour la faune.

Lorsqu'une station ne présente pas huit types de supports différents, le nombre de prélèvements est complété à 8 par autant de prélèvements qu'il est nécessaire sur le support dominant.

Tableau 1 : protocole d'échantillonnage

Catégorie de support	Supports / Vitesses superficielles (1) V (cm/s)	V≤5	5≤V≤25	25≤V≤75	75≤V≤150	V≤150
9	Bryophytes					
8	Spermaphytes immergés					
7	Éléments organiques grossiers (litières, branchages, racines)					
6	Sédiments minéraux de grande taille (pierres, galets) 250 mm > ∅ ≥ 25 mm					
5	Granulats grossiers 250 mm > ∅ ≥ 2,5 mm					
4	Spermaphytes émergents de la strate basse					
3	Sédiments fins ± organiques « vases » ∅ ≤ 0,1 mm					
2	Sables et limons ∅ < 2,5 mm					
1	Surfaces naturelles et artificielles (roches, dalles, sols, parois) blocs > ∅ 250 mm					
0	Algues ou à défaut, marne et argile					

(1) Les limites des classes de vitesses sont données à titre indicatif.

Liste des 152 taxons retenus pour la détermination de l'IBGN

Une liste de 152 taxons susceptibles de participer à la variété totale du milieu en invertébrés aquatiques (Σtaxons ou Σt) a été retenue (voir tableau 2).

Mode opératoire

Les organismes prélevés sur chaque station sont triés puis déterminés suivant les indications données dans la liste des 152 taxons. Les organismes sont comptabilisés sous forme larvaire, nymphale ou adulte. Les fourreaux ou coquilles vides ne sont pas pris en compte.

La détermination s'effectue au niveau de la famille à l'exception de quelques groupes faunistiques dont la détermination s'arrête à la classe ou à l'embranchement.

Calcul de l'IBGN

Parmi les 152 taxons susceptibles d'être présents, 38 taxons ont été sélectionnés comme indicateurs. Ils sont répartis en 9 groupes faunistiques indicateurs (GI) selon leur caractère polluo-sensible. Les numéros attribués à ces différents groupes faunistiques correspondent aux exigences des invertébrés vis-à-vis de la qualité du milieu, les groupes faunistiques 9 et 8 étant les plus exigeants.

Ces 9 groupes faunistiques indicateurs, ainsi que les taxons qu'ils regroupent, sont présentés sur le tableau 3.

Tableau 2 : liste des 152 taxons utilisés (*)

INSECTES

PLÉCOPTÈRES
Capniidae
Chloroperlidae
Leuctridae
Nemouridae
Perlidae
Perlodidae
Taeniopterygidae

TRICHOPTÈRES
Beraeidae
Brachycentridae
Calamocereratidae
Ecnomidae
Glossosomatidae
Goeridae
Helicopsychidae
Hydropsychidae
Hydroptilidae
Lepidostomatidae
Leptoceridae
Limnephilidae
Molannidae
Odontoceridae
Philopotamidae
Phryganeidae
Polycentropodidae
Psychomyidae
Rhyacophilidae
Sericostomatidae
Uenoidae

ÉPHÉMÉROPTÈRES
Ameletidae
Baetidae
Caenidae
Ephemerellidae
Ephemeridae
Heptageniidae
Isonychiidae
Leptophlebiidae
Neoephemeridae
Oligoneuriidae
Polymitarcidae
Potamanthidae
Prosopistomatidae
Siphlonuridae

HÉTÉROPTÈRES
Aphelocheiridae
Corixidae
Gerridae
Hebridae
Hydrometridae
Naucoridae
Nepidae
Notonectidae
Mesoveliidae
Pleidae
Veliidae

COLÉOPTÈRES
Curculionidae
Chrysomelidae
Dryopidae
Dytiscidae
Elmidae
Gyrinidae
Haliplidae
Helodidae
Helophoridae
Hydraenidae
Hydrochidae
Hydrophilidae
Hydroscaphidae
Hygrobiidae
Noteridae
Psephenidae
Spercheidae

DIPTÈRES
Anthomyidae
Athericidae
Blephariceridae
Ceratopogonidae
Chaoboridae
Chironomidae
Culicidae
Cylindrotomidae
Dixidae
Dolichopodidae
Empididae
Ephydridae
Limoniidae
Psychodidae
Ptychopteridae
Rhagionidae
Scatophagidae
Sciomyzidae
Simuliidae
Stratiomyidae
Syrphidae
Tabanidae
Thaumaleidae
Tipulidae

ODONATES
Aeschnidae
Calopterygidae
Coenagrionidae
Cordulegasteridae
Corduliidae
Gomphidae
Lestidae
Libellulidae
Platycnemididae

MÉGALOPTÈRES
Sialidae

PLANIPENNES
Neurorthidae
Osmylidae
Sysyridae

HYMÉNOPTÈRES
Agriotypidae

LÉPIDOPTÈRES
Crambidae

CRUSTACÉS

BRANCHIOPODES

AMPHIPODES
Corophiidae
Crangonyctidae
Gammaridae
Niphargidae
Talitridae

ISOPODES
Asellidae

DÉCAPODES
Astacidae
Atyidae
Cambaridae
Grapsidae
Potaonidae

MOLLUSQUES

BIVALVES
Corbiculidae
Dreissenidae
Margaritiferidae
Sphaeriidae
Unionidae

GASTÉROPODES
Ancylidae
Acroloxidae
Bithynidae
Ferrissiidae
Hydrobiidae
Limnaeidae
Neritidae
Physidae
Planorbidae
Valvatidae
Viviparidae

VERS

ACHÈTES
Branchiobdellidae
Erpobdellidae
Glossiphoniidae
Hirudidae
Piscicolidae

TRICLADES
Dendrocoelidae
Dugesiidae
Planariidae

OLIGOCHÈTES

NÉMATHELMINTHES

HYDRACARIENS

HYDROZOAIRES

SPONGIAIRES

BRYOZOAIRES

NÉMERTIENS

(*) Les 38 taxons indicateurs sont en caractères gras.

Tableau 3 : valeurs de l'IBGN selon la nature et la variété taxonomique des invertébrés aquatiques

Taxons	*GI* \ *t*	> 50	49 45	44 41	40 37	36 33	32 29	28 25	24 21	20 17	16 13	12 10	9 7	6 4	3 1
Chloroperlidae Perlidae Perlodidae Taeniopterygidae	9	20	20	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9
Capniidae Brachycentridae Odontoceridae Philopotamidae	8	20	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8
Leuctridae Glossosomatidae Beraeidae Goeridae Leptophlebiidae	7	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7
Nemouridae Lepidostomatidae Sericostomatidae Ephemeridae	6	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6
Hydroptilidae Heptageniidae Polymitarcidae Potamanthidae	5	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5
Leptoceridae Polycentropodidae Psychomyidae Rhyacophilidae	4	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4
Limnephilidae (*) Hydropsychidae Ephemerellidae (*) Aphelocheiridae	3	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3
Baetidae (*) Caenidae (*) Elmidae (*) Gammaridae (*) Mollusques	2	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
Chironomidae (*) Asellidae (*) Achètes Oligochètes (*)	1	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1

(*) Taxons représentés par au moins 10 individus. Les autres par au moins 3 individus.

Ce tableau permet le calcul de l'IBGN en procédant comme suit :

– On recherche le taxon appartenant au groupe faunistique indicateur le plus élevé (9 s'il en existe, sinon 8, voire 7 en absence de taxons des

groupes précédents,…), On ne prendra en compte que les taxons indicateurs représentés par au moins 3 individus ou 10 individus selon les taxons (voir note du tableau 3). C'est le taxon qui appartient au groupe faunistique le plus élevé qui sera retenu.

– On calcule ensuite le nombre total de taxons répertoriés dans les 8 prélèvements réalisés sur une station est déterminé, soit Σtaxons (ou Σt), quel que soit le nombre d'individus recensé par taxon.

– La note correspondante indiquée au tableau 3 (à l'intersection du groupe faunistique et du nombre total de taxons) correspond la note finale de la station (comprise entre 0 et 20) et donne la valeur de l'IBGN.

Exemples :

– si le groupe faunistique 9 n'est pas représenté sur la station et que 3 ou plus d'individus (du même taxon) du groupe faunistique indicateur 8 sont présents (on a alors GI = 8), et si le nombre total de taxons présents sur la station est de 29 (Σt = 29), l'IBGN sera égal à 16 ;

– si le groupe faunistique indicateur le plus élevé représenté sur la station est le groupe 3 et que dans ce groupe seules des *Ephemerellidae* sont présentes, il faudra avoir au moins 10 individus pour retenir GI = 3.

Présentation des résultats

Pour une station, doivent être indiqués :

– la largeur du lit mouillé au moment du prélèvement ;

– la nature du support et la vitesse d'écoulement correspondant aux huit prélèvements effectués sur la station (couples *S-V*) en indiquant l'habitat dominant (= tableau d'échantillonnage) ;

– la liste des taxons prélevés en précisant éventuellement leur abondance relative ;

– la variété taxonomique de l'échantillon (Σ*t*) ;

– le groupe faunistique indicateur (numéro d'ordre du *GI*) ;

– l'indice biologique global normalisé (IBGN).

Pour une représentation cartographique des résultats, chaque station de cours d'eau peut être affectée, suivant la valeur de l'IBGN, d'une couleur selon le tableau ci-dessous :

IBGN	⩾ 17	16 – 13	12 – 9	8 – 5	⩽ 4
Couleur	bleu	vert	jaune	orange	rouge

Remarques

– En absence de taxon indicateur en nombre suffisant (3 ou 10 individus au moins selon le taxon), l'IBGN est égal à 0.

– Le formol présente des risques pour la santé (produit classé parmi les composés cancérigènes). Il est donc important de respecter scrupuleusement les consignes d'utilisation.

– Cette méthode est applicable dans les cours d'eau peu profonds (environ 1 m de profondeur maximum) dont la totalité ou la quasi-totalité des habitats présents dans le lit mouillé peuvent être prospectés à pied en période de basses eaux, avec des appareils à main de type filet Surber. Ceci permet à l'opérateur de visualiser les substrats échantillonnés.

– La méthode de détermination de l'IBGN n'est pas pertinente pour étudier les eaux saumâtres et les zones d'estuaire.

– Le prélèvement pour l'IBGN peut favoriser l'échantillonnage d'habitats marginaux au détriment d'une bonne représentation des habitats dominants, ce qui induit parfois un biais dans la représentativité de la faune par l'échantillon réalisé, et peut masquer l'effet de certaines altérations.

– Ce protocole basé sur 8 prélèvements sera bientôt modifié (protocole de terrain validé, en cours de normalisation) pour intégrer les exigences du Réseau de Contrôle de Surveillance (RCS) requis par la directive cadre européenne Ce projet de norme de prélèvement prévoit l'utilisation de 12 substrats ainsi qu'une détermination plus poussée (au genre ou espèce) pour certains taxons.

Méthodes de référence

NF T 90-350 (mars 2004). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice biologique global normalisé (IBGN).

GA T 90-374 (décembre 2006). Qualité de l'eau – Guide d'application de la norme NF T90-350 : 2004, IBGN (Détermination de l'indice biologique global normalisé) (Indice de classement : T90-374).

NF EN ISO 8689-1 (mai 2000). Qualité de l'eau – Classification biologique des rivières. Partie 1 : Lignes directrices pour l'interprétation des données relatives à la qualité biologique à partir d'études des macro-invertébrés benthiques (Indice de classement : T 90-355-1).

NF EN ISO 8689-2 (mai 2000). Qualité de l'eau – Classification biologique des rivières. Partie 1 : Lignes directrices pour la présentation des données relatives à la qualité biologique à partir d'études des macro-invertébrés benthiques (Indice de classement : T 90-355-2).

NF EN 27828 (avril 1994). Qualité de l'eau – Méthodes d'échantillonnage biologique : Guide pour le prélèvement des macro-invertébrés benthiques à l'épuisette.

NF EN 28265 (avril 1994). Qualité de l'eau – Conception et utilisation des échantillonneurs de macro-invertébrés benthiques sur substrat rocailleux dans les eaux douces peu profondes.

2.2 Indice biologique macro invertébrés

2.2.1 Indice macro invertébrés applicable aux petits cours d'eau

Développé dans le cadre du Réseau de Contrôle et de Surveillance (RCS) des eaux de surface de la Directive Cadre Européenne, ce protocole s'applique aux cours d'eau pouvant faire l'objet d'une prospection à pied, en période de basses eaux, de la quasi-totalité des habitats, avec des appa-

reils à main de type filet Surber. Il est mis en place depuis 2007 dans le cadre de l'application de la Directive Cadre sur l'Eau.

L'échantillonnage est constitué de 12 prélèvements unitaires sur une station. Un habitat est défini comme étant la combinaison d'un substrat ou support et d'une classe de vitesse de courant superficielle.

Le problème rencontré au niveau des cours d'eau réside dans la difficulté à réaliser un prélèvement représentatif des principaux habitats présents sur une station de façon à obtenir une image globale moyenne du peuplement d'invertébrés, tel que le préconisent les méthodes utilisées au niveau européen. Obtenir cette image représentative du peuplement d'invertébrés suppose en effet d'être en mesure de séparer les habitats dominants des habitats marginaux. Les habitats marginaux (qui représentent moins de 5 % de la mosaïque benthique) ne sont en effet pas toujours pris en compte dans les méthodes. Pour soutenir cette pratique, il est avancé que l'échantillonnage d'habitats marginaux peut dans certains cours d'eau masquer l'effet des altérations physiques. Mais ces habitats peu représentés, qui abritent cependant une faune spécifique, sont souvent très informatifs sur l'état écologique d'une station, notamment sur les premiers signes d'une altération.

■ Objectifs de la méthode

Les prélèvements de substrats dominants et de substrats marginaux doivent permettre d'avoir une image représentative de la macro-faune d'une station, de développer un nouvel indice multi-métrique d'évaluation de l'état écologique des rivières compatible aux exigences de la DCE et de garantir la continuité du suivi qualitatif selon la méthode IBGN.

■ Principe

Pour obtenir un échantillon représentatif de la mosaïque des habitats d'un site (prenant en compte les habitats dominants ainsi que les habitats marginaux) qui permettront de déterminer un équivalent IBGN, la méthode préconise d'échantillonner 12 prélèvements en suivant les règles suivantes :

– échantillonner les habitats dominants grâce à 8 prélèvements unitaires,

– échantillonner les habitats marginaux, à partir de 4 prélèvements.

Les 12 prélèvements sont regroupés en 3 groupes de 4 relevés (ou 3 bocaux) selon certaines règles.

Dans la pratique, la mise en œuvre de cette règle suppose d'identifier sur le terrain les supports dominants (superficie > 5 %) des supports marginaux (≤ 5%).

Comme pour la méthode IBGN, c'est la prospection de substrats (*) différents qui est privilégiée. Mais la vitesse du courant est également un facteur important de diversification des peuplements d'invertébrés benthiques et doit être intégrée dans les règles d'échantillonnage.

Sur le terrain, ceci nécessite d'effectuer :

– un premier groupe de 4 prélèvements sur les supports marginaux, suivant l'ordre d'habitabilité (bocal 1 ou B1),

(*) Substrats : ce sont les éléments végétaux ou minéraux (pouvant inclure des éléments organiques) qui abritent la macrofaune benthique.

– un deuxième groupe de 4 prélèvements sur les supports dominants, suivant l'ordre d'habitabilité (bocal 2 ou B2),

– un troisième groupe de 4 prélèvements sur les supports dominants, en privilégiant la représentativité des habitats (bocal 3 ou B3).

Ces résultats, par bocal, donnent lieu à l'établissement de 3 listes faunistiques par station et permettent différents calculs :

– une liste « équivalente IBGN » (B1 + B2),

– une liste « d'habitats dominants » (B2 + B3),

– une liste « d'habitats marginaux » (B1),

– une liste globale (B1 + B2 + B3).

Choix des stations

Pour être considérée comme représentative du cours d'eau à échantillonner, la station sera constituée de séquences de faciès d'écoulement de type radier/mouille, caractérisés soit par de grandes profondeurs, de faibles vitesses d'écoulement et un profil en long concave (avec fosse), c'est le profil « mouille », soit de zones peu profondes avec de fortes vitesses et des ruptures de pentes très fortes, c'est le faciès « radier ». De plus, la largeur du lit à plein bord permettra d'estimer la longueur moyenne des séquences de faciès. En général, la longueur d'une séquence radier/mouille représente environ 6 fois la largeur du lit à plein bord.

Pour tout cours d'eau, la station doit être aussi représentative que possible de la morphologie du tronçon à étudier.

Appareils de prélèvements

Comme pour le protocole IBGN, les 12 prélèvements sont effectués à partir d'un filet Surber ayant une ouverture de 1/20 m^2 et muni d'un filet de maille de 0,5 mm.

Période de prélèvements

Les prélèvements s'effectuent en basses eaux mais ne doivent pas avoir lieu lors d'une turbidité anormale des eaux (qui ne permettrait pas de décrire correctement l'ensemble des habitats), ou après un épisode de crue important ayant provoqué un remaniement du lit.

Définition des substrats

Un substrat, pour être échantillonné, doit représenter une surface minimale de 2 ‰ de la surface totale de la station d'étude, c'est une surface estimée visuellement. Le substrat est constitué par une association d'éléments minéraux ou d'éléments végétaux, ayant des caractères homogènes sur une certaine surface.

Un substrat dominant est un substrat qui représente plus de 5 % de la surface mouillée totale de la station. Un substrat marginal représente au maximum 5 % de cette surface mouillée et sa taille de ce substrat marginal représente plus de 2 ‰ de la surface de la station à échantillonner et doit se trouver de manière régulière et répétitive sur le tronçon.

Les différents substrats à échantillonner sont classés comme dans la méthode IBGN, selon un ordre de priorité correspondant à une habitabilité décroissante et sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Nature du substrat	Critère d'habitabilité	Protocole de récupération du substrat
Bryophytes	11	Végétal seul (sur bloc) ou avec élément support (sur cailloux)
Spermaphytes immergés (hydrophytes)	10	Inclus la couche superficielle du sédiment
Débris organiques grossiers (litières)	9	Inclus la couche superficielle du sédiment
Chevelus racinaires, supports ligneux	8	Végétal seul
Sédiments minéraux de grande taille (pierres, galets) (25 à 250 mm)	7	Inclus les différentes classes granulométriques de sédiments
Blocs (> 250 mm) inclus dans une matrice d'éléments minéraux de grande taille (25 à 250 mm)	6	Inclus les sédiments et la faune associés au bloc (abris sous bloc)
Granulats grossiers (graviers) (2 à 25 mm).	5	Inclus les différentes classes granulométriques de sédiments
Spermaphytes émergents de strate basse (hélophytes)	4	Inclus la couche superficielle du sédiment
Vases : sédiments fins (< 0,1 mm) avec débris organiques fins	3	Couche superficielle du sédiment (<3cm)
Sables et limons (< 2mm)	2	Couche superficielle du sédiment (<3cm)
Algues	1	Inclus les éléments minéraux du support
Surfaces uniformes dures naturelles et artificielles (roches, dalles, marnes et argiles compactes)	0	Raclage de surface

■ Définition des classes de vitesses

Les classes de vitesse superficielle des cours d'eau sont définies comme suit :

Classe de vitesse cm/s	Vitesse
V < 5	nulle
5 < V < 25	lente
25 < V < 75	moyenne
75 < V < 150	rapide

Mode opératoire général

Le mode opératoire détaillé, qui devrait servir de base à l'élaboration du protocole définitif, prochainement standardisé, est décrit dans le texte de la circulaire DCE 2007/22 du 11 avril 2007. Il n'est pas reproduit ici. Seules les grandes lignes du protocole sont indiquées.

Il intègre des paramètres à respecter :

– sur le repérage des habitats dominants et marginaux,

– sur le positionnement des prélèvements sur une station,

– sur le protocole de tri et de quantification des prélèvements,

– sur le traitement et la fixation des échantillons sur le terrain (élimination d'éléments grossiers qui peuvent endommager le prélèvement, fixation à l'alcool d'organismes fragiles, identification puis comptage et remise à l'eau des espèces rares ou protégées…),

– sur le temps limite de tri et de quantification des familles identifiées, pour optimiser le rapport coût/information,

– sur l'estimation de l'abondance des individus,

– sur les limites de détermination taxonomique.

Conduite de l'échantillonnage

Après un repérage sur la station des habitats marginaux et dominants et la réalisation d'une fiche terrain, les prélèvements sont réalisés en trois lots :

– échantillonnage des habitats marginaux représentatifs de la station (B1),

– échantillonnage des habitats dominants, avec priorité au substrat (B2),

– échantillonnage complémentaire des habitats dominats, au prorata des surfaces (B3).

Conservation des échantillons

Différents modes de conservation peuvent être utilisés : le formaldéhyde (concentration finale 4 %), l'éthanol (concentration finale 70 %), la congélation…

Si utilisation de formaldéhyde comme conservateur, ce produit doit être mentionné sur le bocal pour des raisons de sécurité et de santé humaine.

Traitement des échantillons

La liste des niveaux de détermination est précisée dans le tableau ci-dessous :

Taxon	Niveau de détermination
Plecoptera	Genre
Ephemeroptera	Genre
Trichoptera (sauf *Limnephilidae*)	Genre
Trichoptera *Limnephilidae*	Sous-Famille
Coleoptera (sauf *Dytiscidae, Hydrophilidae et Curculionidae*)	Genre
Coleoptera (*Dytiscidae, Hydrophilidae*)	Sous-Famille
Caleoptera *Curculionidae*	Famille
Megaloptera	Genre
Heteroptera (sauf *Corixinae*)	Famille
Heteroptera *Corixinae*	Sous-Famille
Planipennia	Genre
Odonata (sauf *Coenagrionidae*)	Genre
Odonata *Coenagrionidae*	Famille
Lepidoptera	Famille
Hymenoptera	Genre
Diptera	Famille
Hydracarina	Présence
Crustacea (sauf *Asellidae*)	Genre
Crustacea *Asellidae*	Famille
Bivalvia	Genre
Gastropoda (sauf *Planorbidae*)	Genre
Gastropoda *Planorbidae*	Famille
Hirudnea et Branchiobdellidae	Famille
Oligochaeta	Classe
Bryozoa	Présence
Nematoda	Présence
Gordiacea	Présence
Turbellaria	Famille
Hydrozoa	Présence
Polifera	Présence
Nemertea	Présence

L'ouvrage de base pour cette détermination est le guide *Invertébrés d'eau douce : Systématique, biologie, écologie*, par. H. Tachet, P. Richoux, M. Bournaud et P. Usseglio-Polatera. CNRS Editions, Paris, 2002. Cet ouvrage est complété par une note additive pour les taxons nouveaux ou invasifs (Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces. Systématique élémentaire et aperçu écologique par H. Tachet, P. Richou et M. Bournaud, supplément de mise à jour, Association française de Limnologie, 2006).

Pour les individus trop abîmés suite au protocole de prélèvements ou correspondants aux premiers stades larvaires, la limite pourra être la famille.

Tri et quantification des prélèvements

Le tri s'applique à chaque bocal et l'objectif est d'avoir une liste faunistique quantifiée pour chacun d'eux avec des classes d'abondance par taxon répertorié.

L'abondance est égale au nombre d'individus estimés par taxon pour chaque bocal. Aucun dénombrement n'est demandé pour les taxons dont le niveau de détermination est « présence ».

Le dénombrement des individus est réalisé au niveau taxonomique de la famille avec une précision requise pour l'estimation de l'abondance de chaque famille de 25 %.

Identification et dénombrement

Pour tous les taxons dont l'identification est requise au niveau de la famille, au moins 10 individus (s'ils existent) sont extraits pour identification et conservés.

Pour tous les taxons dont l'identification est requise au niveau du genre, l'abondance des différents genres est estimée à partir de la détermination d'un nombre limité d'individus.

Pour chaque liste faunistique (c'est-à-dire pour chaque bocal), le nombre minimum d'individus à identifier pour chaque famille doit être :

– de 10 individus pour les familles monogénériques,

– de 20 individus pour les familles à diversité générique faible,

– de 40 individus pour les familles à diversité générique forte.

Un tableau permet de connaître, pour chaque famille, la diversité générique faible (si 2 ou 3 genres) ou forte (4 genres ou plus).

Renseignements de la feuille d'échantillonnage

Sur la feuille d'échantillonnage, les différents supports prospectés (substrat/vitesse) correspondants aux prélèvements regroupés dans les bocaux doivent être indiquées.

2.2.2 Indice biologique global adapté aux grands cours d'eau (IBGA)

Objectifs et principe

Dans le cadre de la mise en œuvre de la directive cadre européenne sur l'eau du 23 octobre 2000 (directive 2000/60/CE), le programme de surveillance prévoit de suivre l'état écologique (ou le potentiel écologique) sur les grands d'eau. À ce titre, l'élément de qualité biologique « invertébrés » joue un rôle primordial.

Le protocole relatif à l'IBGN décrit ci-dessus (C-2.1) n'est pas applicable aux grands cours d'eau dont la profondeur peut être élevée, de même que le précédent protocole (C-2.2.1). Une proposition de méthode adaptable pour les grands cours d'eau, dans le cadre du suivi du RCS (Réseau de Contrôle et de Surveillance), a été élaborée en septembre 2008.

Pour adapter ces protocoles aux grands cours d'eau, aux rivières profondes ou aux rivières navigables et canalisées, des règles de mise en œuvre

et des guides méthodologiques ont été élaborés (voir méthodes de référence). Elles devraient constituer les bases d'une méthode standardisée (normalisation en cours).

Le protocole d'échantillonnage prévoit la réalisation par station d'étude de 12 prélèvements répartis en 3 groupes de 4 relevés correspondant à :

– 4 prélèvements effectués dans la zone rivulaire (donc peu profonde) à l'aide de l'appareil Surber, suivant l'ordre d'habitabilité des substrats (bocal B1),

– 4 prélèvements dans la partie centrale du lit de la rivière, à partir d'une drague (bocal B2),

– 4 prélèvements dans la zone intermédiaire à l'aide de substrats artificiels (bocal B3).

Les résultats sont exprimés sous la forme de 3 listes faunistiques (une par bocal) et par analogie avec la méthode du RCS (C-2.2.1.) permettront d'avoir :

– une liste « habitats dominants » (B2 + B3),

– une liste « habitats marginaux » (B1),

– une liste « faune globale » (B1 + B2 + B3).

☐ **Matériel**

Pour les zones rivulaires (berges), on utilisera des échantillonneurs d'une surface 1/20 de m^2 dont les mailles de filet sont de 0,5 mm. Ils peuvent être :

– de type « Surber » (voir schéma au § C.2.1) pour les zones courantes,

– de type troubleau ou haveneau pour les zones plus calmes.

Pour les zones profondes, dans la partie centrale du lit, on utilisera des dragues (triangulaires ou cylindro-coniques), ce qui nécessite l'emploi d'une embarcation légère.

Pour les zones intermédiaires, les substrats artificiels constitués de pierres plates propres d'environ 20 cm de diamètre (et si possible de même nature que celles présentes dans le cours d'eau) et de cordes végétales (en sisal par exemple), qui sont enfermées dans un grillage plastique (maille environ 2 cm) (voir photo ci-dessous). Ils seront immergés sur le site pendant une période de 3 à 6 semaines, qui correspond à une durée optimale de colonisation.

Exemple de « cage » contenant les substrats artificiels (pierres et cordages)

Méthodologie d'échantillonnage

Pour les zones de rive ou de berge, dont la profondeur est inférieure à 1 m, un substrat échantillonné doit être présent sur une surface minimale visible telle que l'indique le tableau ci-dessous :

Largeur du cours d'eau en m	15 à 25	25 à 40	> 40
Surface minimale du substrat en m^2	2,5 à 7,5	7,5 à 10	> 10

Le substrat échantillonné, à l'aide du Surber, doit se trouver de façon régulière dans le lit de la rivière et doit donc être représentatif du milieu.

Le mode de prélèvement par le filet troubleau s'effectue par traction sur quelques dizaines de centimètres.

Pour les échantillonnages réalisés à partir d'une embarcation, la drague est tractée sur une distance de quelques dizaines de mètres pour recueillir quelques litres de sédiments (fins ou grossiers).

Pour les substrats artificiels, ils sont immergés dans des habitats différents (profondeur, vitesse de courant, nature des fonds) sur les 2 rives de la rivière. Ils sont disposés dans le fond du lit, si possible en zone de courant pour éviter le colmatage rapide par les sédiments, à une hauteur d'eau supérieure à 1 m. En effet, le colmatage des substrats artificiels empêche la colonisation de ces substrats par la macro-faune aquatique.

Définition des classes de vitesses

Les classes de vitesse des cours d'eau sont définies comme suit :

Classe de vitesse cm/s	Vitesse
V < 5	nulle
5 < V < 25	lente
25 < V < 75	moyenne
v ≥ 75	rapide

Présentation des résultats par regroupement d'échantillons

Les prélèvements réalisés dans une même zone (rive, zone intermédiaire ou drague) donc avec la même technique d'échantillonnage peuvent être regroupés en 3 groupes de 4 relevés soit 3 bocaux. Les 12 prélèvements requis sont réalisés en 3 groupes de 4 relevés (ou 3 « bocaux ») selon les préconisations suivantes :

– échantillonnage des habitats marginaux représentatifs (berges) suivant l'ordre d'habitabilité (bocal 1 ou B1) ;

– échantillonnage des habitats dominants (eaux profondes), (bocal 2 ou B2) ;

– échantillonnage de la zone intermédiaire (bocal 3 ou B3).

Les résultats seront exprimés sous la forme de 3 listes faunistiques par échantillon, soit une liste pour chaque bocal.

Détermination taxonomique des invertébrés

La liste taxonomique de référence complète figure dans le texte de la Circulaire DCE 2007/22 du 11 avril 2007. Elle met en évidence les groupes, les familles et les niveaux systématiques à renseigner pour les taxons, ainsi que leur diversité (faible ou forte).

De plus les taxons de la liste ci-dessous ont été ajoutés à la liste des taxons à référencer :

Familles	Genres
Gammaridae	Dikerogammarus
Janiridae	Jaera
Talitridae	Orchestia
Sphaeridae	Musculium
Hydrobiidae	Pseudamnicola
	Marstoniopsis
Physidae	Physella
Emmericidae	Emmerica
Polychaeta	Hypania

Tri et quantification des prélèvements

Chaque bocal correspondant à 4 échantillons fait l'objet au laboratoire d'un tri et d'une détermination afin d'établir une liste faunistique quantifiée avec des abondances par taxon répertorié.

Renseignements de la feuille d'échantillonnage

En plus du résultat obtenu à partir des listes faunistiques, il est important de fournir les renseignements suivants :

– nature des substrats identifiés pour chacun des 12 prélèvements,

– classe de vitesse et hauteur d'eau au point de prélèvement,

– technique d'échantillonnage (matériel utilisé).

Le tableau ci-dessous définit les classes de hauteur d'eau :

Classe de hauteur d'eau	≤ 1	> 1 à 2	> 2 à 4	> 4 à 8	> 8 à 16	> 16
Hauteur d'eau en m	1	2	3	4	5	6

Méthodes de référence

Circulaire DCE 2007/22 du 11 avril 2007 relative au protocole de prélèvement et de traitement des échantillons des invertébrés pour la mise en œuvre du programme de surveillance sur cours d'eau.

NF EN ISO 9391 – Qualité de l'eau – Échantillonnage de macro-invertébrés en eaux profondes : Guide d'utilisation des échantillonneurs de colonisation qualitatifs et quantitatifs. Avril 1995.

Circulaire DCE 2006/16 du 13 juillet 2006 relative à la constitution et la mise en œuvre du programme de surveillance (contrôle de surveillance, contrôles opérationnels, contrôles d'enquête et contrôles additionnels) pour les eaux douces de surface (cours d'eau, canaux et plans d'eau).

P. USSEGLIO-POLATERA, J.-G. WASSON et V. ARCHAIMBAULT. Protocole de prélèvements des invertébrés sur le Réseau de Contrôle de Surveillance, Université de Metz et Cemagref Lyon – mars 2007.

P. USSEGLIO-POLATERA, J.-G. WASSON et V. ARCHAIMBAULT. Adaptation du protocole RCS aux grands cours d'eau – Université de Metz et Cemagref Lyon. Proposition de note méthodologique – septembre 2008.

2.3 Indice biologique diatomique (IBD)

Les diatomées sont des algues brunes unicellulaires pourvues d'un squelette siliceux comportant deux valves emboîtées (frustule). Il en existe des milliers d'espèces dans le monde et elles vivent dans les eaux douces, ou dans les milieux salins (estuaires et eaux de mer).

Leur choix en tant que bioindicateur est apparu comme pertinent puisque les diatomées peuplent les cours d'eau tout au long de l'année, qu'elles réagissent aux perturbations du milieu aquatique et qu'il est possible d'analyser la flore diatomique benthique avec une bonne fiabilité.

Certaines pollutions chimiques, matière organique, composés azotés et phosphorés provoquent un changement des communautés de diatomées dans le tronçon concerné, les espèces sensibles disparaissant au profit d'espèces plus résistantes. L'examen des espèces (nature, nombre et fréquence) permet d'estimer l'état de pollution du cours d'eau au cours des semaines précédant le prélèvement.

■ Principe

En utilisant des protocoles strictement définis, les diatomées benthiques prélevées sur le site sont déposées sur une lame puis identifiées et dénombrées au microscope.

Le dénombrement des taxons intervenant dans l'Indice Biologique Diatomique (IBD) permet de calculer une note comprise entre 0 et 20 qui est en relation directe avec la qualité du milieu, les notes supérieures à 15 concernant des milieux de bonne, voire de très bonne qualité.

Le calcul de l'IBD implique la prise en compte de 1 488 taxons.

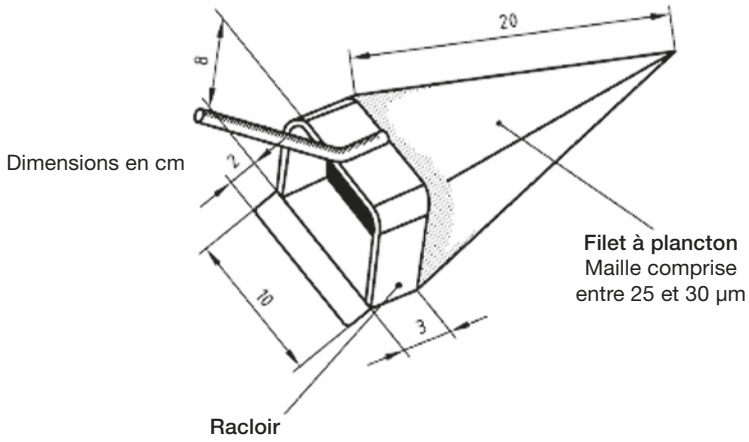
Si le nombre de diatomées comptées est inférieur à 400, la préparation doit être refaite. Mais en l'absence d'un nombre total de diatomées supérieur à 400, une valeur IBD = 0 sera attribuée à la station.

Matériel

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT DES DIATOMÉES

– couteau ou petite brosse à poils durs pour gratter les supports durs (pierres, galets…) ;

– échantillonneur composé d'un racloir équipé d'une lame tranchante terminé par un filet dont les mailles seront comprises entre 25 et 30 μm (cf schéma).



MATÉRIEL DE PRÉPARATION ET D'OBSERVATION DES LAMES

– verrerie de laboratoire, dont lames et lamelles (de préférence rondes) ;

– microscopique optique équipé d'un objectif 100x à immersion à large ouverture numérique. Un éclairage rasant ou un dispositif à contraste de phase (ou contraste interférentiel) sont recommandés pour une meilleure visualisation ;

– plaque chauffante ou bain de sable.

FLORE DE RÉFÉRENCE

L'utilisation d'une flore de référence européenne est recommandée. Les ouvrages de références conseillés sont les suivants :

Süβwasserflora : Bacillariophyceae in Süβwasserflora von Mitteleuropa de K. Krammer et H. Lange-Bertalot, ed. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart :

– tome 1 : Naviculacea, Band 2/1, 1986, 876 pages ;

– tome 2 : Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae, Band 2/2, 1988, 596 pages ;

– tome 3 : Centales, Fragilariaceae, Eunotiaceae, Band 2/3, 1991, 600 pages ;

– tome 4 : Achnanthaceae. Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphoneama, Band 2/4, 1991, 437 pages.

Réactifs

– formaldéhyde (formol) : solution aqueuse commerciale à environ 40 %, neutre et tamponnée ;

– eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) à 30 % minimum ;
– éthanol ;
– acide chlorhydrique à environ 30 % ;
– toluène ou solvant équivalent ;
– résine de montage à indice de réfraction élevé (> 1,7).

Échantillonnage

L'échantillonnage sera réalisé préférentiellement sur des supports durs naturels, les plus stables possibles, l'ordre de choix étant le suivant : blocs, galets, cailloux. En leur absence on se tournera vers des supports durs non naturels (piles de ponts par exemple), puis vers des supports de nature végétale (algues filamenteuses, bryophytes, végétaux supérieurs). Si aucun de ces substrats n'est présent, il est possible d'utiliser des substrats artificiels (blocs de pierre, carreaux de faïence, cordes de polypropylène effrangées…), qui seront introduits sur le site et que l'on laissera se coloniser pendant trois à cinq semaines.

Effectuer le prélèvement par raclage.

Le prélèvement de sédiments meubles ou instables (vases, sable) est proscrit pour cette détermination.

L'échantillonnage doit être effectué en période de basses eaux, en s'assurant que les substrats à échantillonner aient été suffisamment immergés.

Quel que soit le support, la surface échantillonnée est de l'ordre de 100 cm^2 et un seul échantillon est prélevé par station.

Mode opératoire

Prétraitement de l'échantillon

Sur le terrain, ajouter du formol à l'échantillon. Une concentration finale de 1 à 4 % dans l'échantillon suffit généralement à la conservation.

Préparation des lames

– ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour éliminer le carbonate de calcium éventuellement présent ;

– ajouter de l'eau oxygénée (4 volumes pour 1 volume d'échantillon) pour déstructurer la matière organique. Poursuivre cette opération jusqu'à obtention d'une solution légèrement blanchâtre. On pourra chauffer légèrement dans un bain de sable pour accélérer le processus ;

– rincer et purifier l'échantillon par 3 à 4 rinçages successifs à l'eau déionisée en procédant comme suit :

- ajouter de l'eau déionisée,
- laisser décanter (environ 10 heures) ou centrifuger (au minimum 3 minutes à 1 500 tr/min,
- éliminer le liquide surnageant (ou récupérer le culot de centrifugation),
- remettre en suspension dans un petit volume d'eau désionisée (on doit obtenir un liquide légèrement trouble.

– déposer quelques gouttes de la suspension obtenue sur une lamelle et sécher à une température inférieure à 40 °C. Poursuivre si nécessaire la

dessication par passage de la lamelle à l'éthanol ou au toluène, puis sécher à environ 100 °C sur une plaque chauffante ;

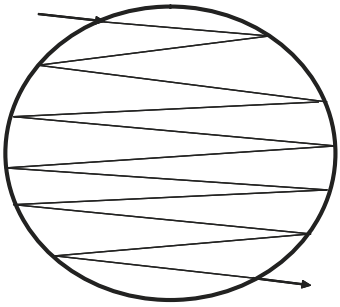
– déposer 1 à 3 gouttes de résine sur une lame et retourner la lamelle portant les diatomées sur cette lame ;

– placer l'ensemble lame/lamelle sur une plaque chauffante. Après une légère ébullition, on retire la lame, o la pose sur une surface plane et on exerce une pression sur la lamelle de façon à répartir les diatomées dans le plan ;

– observer au microscope dès que la lame est refroidie ou conserver pour un examen ultérieur.

Inventaire des taxons

Sous l'objectif du microscope, balayer la lame suivant un parcours en zig-zag :



Procéder à l'inventaire de 400 diatomées en identifiant les diatomées faisant partie des 1 488 taxons référencés. Cette liste est présentée en annexe de la norme (NF T 90-354 de décembre 2007).

Si le nombre de diatomées comptées est inférieur à 400, refaire une préparation à partir de la suspension préparée précédemment.

> Un logiciel d'aide à la détermination des taxons retenus pour le calcul de IIBD a été développé par le CEMAGREF de Bordeaux et l'Agence de l'Eau Artois-Picardie. Il est disponible gratuitement.

Calcul de la probabilité de présence des taxons

Les probabilités de présence des 1 488 taxons ont été déterminées pour 7 classes de qualité d'eau. Les valeurs sont annexées à la norme NF T 90-354 sous formes de tableaux donnant les probabilités de présence pour chacun des 1 488 taxons en fonction des 7 classes de qualité d'eau classées par ordre de qualité croissante.

Des valeurs seuils, qui serviront à éliminer les taxons insuffisamment abondants sont également données sur ces tableaux.

Calcul de l'IBD

Après application des valeurs seuils : calculer (en ‰) l'abondance A_x de chaque taxon x.

Pour chaque taxon, une table donne une valeur indicatrice (normative) : ν_x.

Ceci permet de calculer la fréquence pondérée d'un taxon fictif représentatif du peuplement étudié ($F_{(i)}$) pour chacune des classes de qualité i :

$$F_{(i)} = \frac{\sum_{x=1}^{n} A_x \times P_x(i) \times \nu_x}{\sum_{x=1}^{n} A_x \times \nu_x}$$

Avec : $P_X(i)$ = probabilité de présence du taxon apparié x déterminé précédemment.

Une valeur de $F_{(i)}$ est calculée pour chaque classe de qualité. On obtient donc 7 valeurs, qui vont permettre de déterminer une valeur intermédiaire B selon la formule :

Valeur intermédiaire = $1 \times F_{(1)} + 2 \times F_{(2)} + 3 \times F_{(3)} + 4 \times F_{(4)} + 5 \times F_{(5)} + 6 \times F_{(6)} + 7 \times F_{(7)}$

Cette valeur intermédiaire B permet la détermination de l'IBD grâce au tableau suivent :

Valeur intermédiaire B	Inférieure à 2	Comprise entre 2 et 6	Supérieure ou égale à 6
Valeur de l'IBD	1,0	(4,75 x B) – 8,5	20,0

Le logiciel OMNIDIA (développé par la société CLCI) permet de calculer directement la valeur de l'IBD à partir de la liste floristique diatomique.

Des classes de qualité d'eau sont définies en fonction de la valeur de l'IBD, elles sont représentées sur les cartes avec le code couleur habituel (voir tableau ci-dessous).

IBD	< 5,0	5,0 ≤ IBD < 9,0	9,0 ≤ IOBS < 13,0	13,0 ≤ IOBS < 17,0	≥ 17,0
Qualité de l'eau	mauvais	médiocre	Moyen	bon	Très bon
Code couleur	rouge	orange	Jaune	vert	bleu

Indice de polluo-sensibilité (IPS)

Une composante « effets de pollutions toxiques » est incluse dans cette méthode et calculable par le logiciel. Elle prend en compte des formes « anormales » de diatomées (tératogènes) et permet d'accéder au calcul d'un indice dit « de polluo-sensibilité (IPS) ».

Remarques

– Le formaldéhyde présente des risques pour la santé (produit classé parmi les composés cancérigènes). Il est donc important de respecter scrupuleusement les consignes d'utilisation.

– L'utilisation du toluène est réglementée compte tenu de sa toxicité.

Méthodes de référence

NF T 90-354 (décembre 2007). Qualité de l'eau – Détermination de l'Indice Biologique Diatomées.

NF EN 13946 (juillet 2003). Qualité de l'eau – Guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières (Indice de classement : T90-357-1).

NF EN 14407 (octobre 2004). Qualité de l'eau – Guide pour l'identification et le dénombrement des échantillons de diatomées benthiques de rivières, et leur interprétation (Indice de classement : T90-357-2).

Agences de l'Eau/CEMAGREF. Guide méthodologique pour la mise en œuvre de l'Indice Biologique Diatomique NF T 90-354 et cédérom TAX'IBD (logiciel de reconnaissance des diatomées retenues pour le calcul de l'IBD). 2000.

2.4 Indice oligochète de bioindication des sédiments (IOBS)

Cet indice est basé sur la détermination de la richesse taxonomique en oligochètes d'un échantillon. Il est applicable à l'ensemble des cours d'eau (ainsi qu'aux eaux saumâtres) pourvus de sédiments fins ou sableux, permanents ou stables et son domaine d'application s'étend aux lacs et retenues.

La classe des oligochètes se compose de vers annelés la plupart terrestres, parfois aquatiques et souvent limicoles. Mais ce sont les formes limicoles qui sont prises en compte dans l'indice oligochète. En relation directe avec la qualité de l'eau qui les baigne, ces oligochètes sont utilisés comme des descripteurs des activités anthropiques sur les milieux aquatiques. Les différences de sensibilité des familles d'oligochètes à la pollution permettent à l'indice oligochète de traduire l'impact des pollutions (micropollution liée à la présence de métaux lourds ou de composés organique) dans toutes les eaux courantes, y compris dans les lacs et les grands barrages.

Organisme multicellulaire vermiforme, aplati ou cylindrique et sans pattes, les oligochètes sont de forme régulière à symétrie bilatérale. Leur corps sans tête distincte, avec une bouche sans mâchoires est revêtu de soies locomotrices peu nombreuses, d'où le nom d'oligochètes. Leur taille varie de quelques millimètres à quelques centimètres.

Les rejets toxiques limitent leur développement, mais ils possèdent des facultés d'adaptation étonnantes, avec modification possible du cycle de reproduction. C'est la famille des Tubificidae, la plus tolérante à la pollution,

qui par son pourcentage de présence permettra d'évaluer l'indice oligochète, défini par 5 classes de qualité de sédiments.

L'indice oligochète est basé sur des taxons (*) à développement strictement aquatique recensés dans toutes les eaux continentales européennes.

Principe

Des oligochètes sont prélevés dans les sédiments des cours d'eau, selon un protocole précis qui prend en compte le type de sédiment présent. Après extraction par tamisage, les oligochètes sont montés entre lame et lamelle puis identifiés et dénombrés au microscope.

Le calcul de l'Indice oligochète de bioindication des sédiments (IOBS) est basé sur l'examen de 100 oligochètes identifiables. Le nombre total d'oligochètes identifiés rapporté au pourcentage du groupe de Tubificidae permet le calcul de l'indice oligochète.

Réactifs

– formol (aldéhyde formique) : solution aqueuse à environ 40 % (v/v) ;
– glycérine (ou glycérol) ;
– acide lactique ;
– optionnel :
  • éosine,
  • vernis à luter,
  • éthanol,
  • hexamétaphosphate de sodium.

Matériel

APPAREILS DE PRÉLÈVEMENT

– filets échantillonneurs de type haveneau ou Surber (voir schéma au § IBGN), équipés de filets dont la maille est au maximum de 0,315 mm (au lieu de 0,500 mm pour l'IBGN),
– carottiers de 20 à 25 cm^2 d'ouverture,
– bennes de type Friedinger ou Ekman-Lenz,
– tamis : maille 0,315 mm,
– cuvette à bec.

MATÉRIEL D'EXTRACTION

– colonne de 2 tamis comprenant un tamis de 2,5 mm à 5 mm de maille pour retenir les débris grossiers et un tamis de 0,5 mm de maille, dont le refus servira à extraire les oligochètes,
– cuves quadrillées de sous-échantillonnage (12, 25, 49 ou 100 cases),
– pipettes possédant une ouverture minimale de 8 mm pour aspirer le contenu des carrés dans les cuves quadrillées,
– boîtes de Pétri (diamètre 90 à 100 mm),
– hotte aspirante ou extracteur de vapeurs pour la manipulation des échantillons contenant du formaldéhyde.

(*) Taxon = unité systématique (famille, genre, espèce, sous-espèce, écotype).

PRÉPARATION ET EXAMEN MICROSCOPIQUE

– microscope optique équipé d'un objectif à immersion (X 10 à 600),
– loupe binoculaire (X 4 à 40),
– lames et lamelles,
– platine chauffante (environ 80 °C).

Échantillonnage

L'échantillonnage est pratiqué de préférence en période d'étiage (ou au minimum 10 jours après un épisode de hautes eaux), en s'assurant que les sédiments permanents sont toujours restés immergés.

Un échantillon est constitué d'au moins 3 prélèvements (ou 4 à 5 si l'on utilise un carottier) sur une surface totale minimale de 100 cm^2. Les échantillons sont regroupés dans un même récipient. Le mode de prélèvement varie selon la nature du sédiment dominant. On considère que l'intervalle entre les points de prélèvements doit être d'environ 30 pas.

Seuls les 8 à 10 premiers centimètres de sédiments sont récupérés.

Prétraitement de l'échantillon sur le terrain

Le prélèvement est versé dans une cuvette à bec dans laquelle on ajoute de l'eau. Le mélange sédiments + eau est agité manuellement et l'eau surnageante (chargée de débris organiques et de faune) est versé sur un tamis de 0,315 mm. Cette opération est répétée au moins 10 fois. Le résidu restant dans la cuvette est éliminé et on ne conservera que les refus du tamis qui sont transférés dans le récipient de stockage, en s'aidant éventuellement d'une pissette remplie avec de l'eau de surface.

Conditionnement des échantillons pour le transport

Ajouter du formol (*) dans le récipient de stockage pour obtenir une concentration finale en formol d'environ 5 % (v/v). Agiter soigneusement le récipient pour assurer l'homogénéité de la répartition du formol, tout en prenant soin de limiter les phénomènes d'abrasion que pourraient causer les particules sur les oligochètes.

Mode opératoire

RÉCUPÉRATION DES OLIGOCHÈTES PAR TAMISAGE DE L'ÉCHANTILLON

Utiliser la colonne à 2 tamis et effectuer le tamisage sous eau courante à débit modéré.

Sur le tamis supérieur dont la maille est de 2,5 à 5 mm on récupérera essentiellement de grosses particules minérales ou organiques, ainsi que des débris végétaux. Mais il peut s'y trouver également des oligochètes de grande taille qui seront récupérés à l'aide de pinces brucelles et incorporés au refus du deuxième tamis (maille de 0,500 mm) où se retrouvent la majorité des oligochètes et sur le contenu duquel sera réalisée l'extraction.

Pour les vases très limoneuses, un agent défloculant sera utilisé, c'est l'hexamétaphosphate, qui sera ajouté à l'échantillon avant tamisage.

(*) Respecter scrupuleusement les règles de sécurité en vigueur pour l'utilisation du formol (lunettes, gants, protection nasale, fermeture hermétique des récipients de stockage…).

Une coloration à l'éosine peut également être réalisée pour faciliter l'extraction des oligochètes. Ceux-ci sont colorés en rouge, alors que les débris végétaux ne prennent pas la coloration.

Extraction des oligochètes

Le refus du tamis de 0,500 mm est récupéré sous eau courante à débit modéré et versé dans une cuve au fond compartimentée en cases carrées de surfaces égales. Une série de 4 boîtes possédant 12, 25, 49 ou 100 cases permet d'adapter la boîte au volume de matériel récupéré. Ces boîtes sont munies de couvercles étanches.

De l'eau du robinet est ajoutée dans la cuve (hauteur environ 5 mm maximum). Puis l'ensemble est agité vigoureusement (50 fois) avant de laisser décanter pendant 5 minutes.

Pour l'examen, on choisira dans la boîte des cases de manière aléatoire. Le contenu de chaque case est récupéré à l'aide d'une pipette (d'au moins 8 mm d'ouverture) et transféré dans une boîte de Petri. Le contenu de la boîte est examiné à la loupe binoculaire à grossissement moyen (X 10) et les oligochètes sont extraits avec une pince fine. La récupération de cases successives se poursuivra jusqu'à obtention de 100 oligochètes identifiables.

Préparation des oligochètes pour examen microscopique

Les 100 oligochètes extraits sont déposés sur une lame dans un milieu de montage composé d'un mélange à parts égales de glycérine et d'acide lactique. Les oligochètes sont regroupés selon leur taille sur des lames séparées, si possible en position longitudinale (pour permettre l'observation des soies). Une lame pourra accueillir environ 8 oligochètes de grande taille ou environ 25 spécimen de petits exemplaires.

Recouvertes d'une lamelle, les lames sont placées sur une platine chauffante (à 80 °C) pendant au moins 30 minutes. Ce chauffage va provoquer un éclaircissement des individus, favorable à leur identification.

Détermination des taxons

À l'aide d'un microscope à immersion, si possible à contraste de phase, avec un grossissement de 10 à 1000, on précédera à la détermination des taxons.

On pourra utiliser les ouvrages suivants pour cette identification :

– R.O. Brinkhurst. A guide for the identification of British aquatic Oligochaeta. *Sci. Publ. Freshwat. Biol. Ass., Ambleside,* 1971, 22, 55 pages.

– D.J. Klemm. A guide to the freshwater Annelida (Polychaeta, Naidid and Tubificidae Oligochaeta, and Huridinea) of North America. *Kendall/Hunt, IOWA*, 1985, 198 pages.

– M. Lafont. Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises. 3 : Annelides oligochètes. *Bull. Mens. Soc. Limn., LYON*, 1983, 52 (4), 108-135.

– C. Sperber. A guide for the determination of european Naididae. Zool. Bidr. Upps.1950, 29, 45-78.

Expression des résultats

La détermination est basée sur l'examen de 100 taxons identifiables. Soit :

– S : le nombre total de taxons identifiés parmi les 100 oligochètes.

– T : le pourcentage du groupe dominant de Tubificidae, avec ou sans soies capillaires, matures et immatures confondus.

L'Indice Oligochète de Bioindication des Sédiments (IOBS) s'exprime alors par la formule :

$$IOBS = \frac{10 \times S}{T}$$

L'indice IOBS varie entre 0 et 10, et des classes de qualité sont définies comme suit, avec les codes de couleur habituels :

IOBS	< 1	1 ≤ IOBS < 2	2 ≤ IOBS < 3	3 ≤ IOBS < 6	≥ 6
Qualité biologique des sédiments (et donc de l'eau)	mauvais	médiocre	Moyen	bon	Très bon
Code couleur	rouge	orange	Jaune	vert	bleu

Si le nombre d'oligochète dans l'échantillon est inférieur à 100, l'IOBS est non calculable. La valeur IOBS = 0 est attribuée à tout échantillon ne comportant pas d'oligochètes.

Méthodes de référence

NF T90-391 (mars 2005). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice oligochètes de bioindication lacustre (IOBL).

NF T90-390 (avril 2002). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice oligochètes de bioindication des sédiments (IOBS).

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. Indice oligochètes de bioindication des sédiments – Guide méthodologique. Études sur l'Eau en France N° 88, 2002.

2.5 Indice biologique macrophytique en rivière (IBMR)

L'appellation macrophyte s'applique à toutes les plantes aquatiques visibles à l'œil nu, qu'il s'agisse de plantes à fleurs, de fougères, de mousses ou d'algues. Végétaux participant à la photosynthèse, les plantes aquatiques flottent en surface ou sont totalement immergées, en permanence ou la majorité du temps.

Les macrophytes sont très utiles dans les milieux aquatiques en structurant l'habitat des nombreux organismes (poissons par exemple), en les protégeant des courants et des prédateurs, en abritant leurs œufs,… En

tant que producteurs primaires, ils constituent également une importante source de nourriture.

Très sensibles aux modifications des concentrations en substances nutritives (en particulier pour le phosphore et l'ammonium) et aux pollutions organiques, les plantes aquatiques possèdent une aptitude élevée à traduire les variations de qualité chimique et physique des eaux à partir de la composition des communautés macrophytiques.

Principe

La détermination de l'Indice Biologique Macrophytique en Rivière (IBMR) repose sur une observation *in situ* des peuplements macrophytiques. Une identification des taxons et l'établissement d'une liste floristique permet le calcul de l'IBMR.

Un prélèvement n'est pas obligatoire, mais il peut s'avérer nécessaire pour une vérification taxonomique.

Matériel

Observation ou prélèvement en cours d'eau peu profonds (< 1,20 m) et à courant modéré

– boîte à fond vitré (ou aquascope),
– loupe de terrain.

Observation ou prélèvement en cours d'eau profonds (> 1,20 m) et à courant important

– grappin pour prélever de la berge,
– embarcation,
– cordage gradué,
– râteau à manche téléscopique d'environ 4 m de longueur,
– loupe de terrain.

Stockage des échantillons

– sacs plastiques ou flacons à large ouverture,
– enceintes réfrigérées (y compris pour le transport vers le laboratoire).

Préparation et observation des échantillons au laboratoire

– loupe binoculaire (X20 à X 60 au minimum),
– microscope optique (au minimum X 100 à X 400),
– matériel courant de laboratoire : lames et lamelles, pinces, scalpel, etc.

Réactifs

Lugol ou alcool pour la conservation des échantillons biologiques.

Échantillonnage

La détermination de l'IBMR doit être réalisée en, période de développement de la végétation et si possible avec des eaux relativement claires et un niveau d'eau bas, sans que cela ait pu affecter le développement des macrophytes.

Un tronçon de cours d'eau (station) comprenant plusieurs faciès de courant sera choisi : faciès lentique (avec faible vitesse de courant) et faciès lotique (avec forte vitesse de courant). Des stations à fort éclairage naturel seront privilégiées et la surface de cours d'eau étudiée sera d'au minimum 100 m^2 et la longueur minimale de cours d'eau échantillonné est fixée à 100 mètres.

Mode opératoire

ÉTABLISSEMENT DE LA LISTE FLORISTIQUE

Les taxons pris en compte dans l'indice biologique macrophytique en rivière sont au nombre de 208, comportant :

– des phanérogames (107 espèces),
– des ptéridophytes (3 espèces),
– des bryophytes (52 espèces),
– des lichens (2 espèces),
– des macro-algues (42 genres),
– des champignons et bactéries filamenteuses (2 genres).

La liste de référence complète est annexée à la norme Afnor NF T 90-395. Figurent également en regard de cette liste des éléments qui serviront au calcul de l'IBMR. Il s'agit de la cote spécifique d'oligotrophie (variant de 0 à 20) de chaque taxon ainsi que du coefficient de sténoécie du taxon (coefficient correspondant à l'amplitude écologique de ce taxon). Ainsi une espèce euryèce (qui possède une large amplitude écologique) sera affectée du coefficient 1, une espèce sténoèce (qui possède une faible amplitude écologique) se voit attribuer un coefficient de 3 et les espèces intermédiaires reçoivent un coefficient de 2.

La détermination des taxons inventoriés pourra être réalisée sur le terrain ou au laboratoire.

> Pour cette détermination floristique, on pourra se référer aux ouvrages suivants :
>
> – J. Barbe. Les végétaux aquatiques. Données biologiques et écologiques – Clés de détermination des macrophytes en France. *Bull. Fr. Piscic.*, 1984, n° spécial 57, 42 pages.
>
> – S.J. Casper and H.D. Krausch. Süsswasserflora von Mitteleuropa. *Fisher Verlag, New York*, 1980, 943 pages.

ESTIMATION DU COEFFICIENT D'ABONDANCE

Une estimation du pourcentage de substrat couvert par des macrophytes permet de déterminer des coefficients de recouvrement (Ki) qui sont répartis en 5 classes (voir tableau ci-dessous).

Abondance et recouvrement de l'espèce		Valeur de Ki
Espèce juste présente	Recouvrement < 0,1 %	1
Espèce peu recouvrante et peu fréquente	0,1 % < recouvrement < 1 %	2
Espèce assez recouvrante et assez fréquente	1 % < recouvrement < 10 %	3
Espèce moyennement recouvrante	10 % < recouvrement < 50 %	4
Espèce très recouvrante et très abondante	Recouvrement > 50 %	5

Calcul de l'IBMR

L'IBMR se calcule comme suit :

$$IBMR = \frac{\sum_{i}^{n} Ei \times Ki \times Csi}{\sum_{i}^{n} Ei \times Ki}$$

i espèce contributive.

n nombre total d'espèces contributives.

Csi cote d'oligotrophie spécifique à chaque taxon (variant de 0 à 20).

Ki coefficient d'abondance (variant de 1 à 5 selon la gamme de recouvrement).

Ei coefficient de sténoécie (variant de 1 à 3 suivant le taxon).

Les résultats de l'IBMR sont interprétés selon une grille à 5 niveaux caractérisant les niveaux trophiques des eaux, avec les codes couleur habituels (cf. tableau ci-dessous).

IBMR	IBMR ≤ 8	8 < IBMR ≤ 10	10 < IBMR ≤ 12	12 < IBMR ≤ 14	IBMR > 14
Niveau trophique	très élevé	fort	moyen	faible	très faible
Code couleur	rouge	orange	jaune	vert	bleu

La détermination d'un niveau trophique très élevé ne correspond pas nécessairement à une dégradation de la qualité des eaux. Il traduit essentiellement le degré de trophie associé à des teneurs en ammonium ou en orthophosphates, ainsi qu'à quelques micropolluants organiques. Il peut également refléter certaines caractéristiques physiques du milieu, tel que l'intensité de l'éclairement ou l'hydrodynamique des masses d'eau (vitesses d'écoulement).

> Le GIS (Groupement d'Intérêt Scientifique) « Macrophytes des eaux continentales » propose des outils pour faciliter la saisie et l'expression des résultats. Il s'agit de fiches de terrain pour l'aide à la saisie des relevés et de feuilles de calcul de l'IBMR (développées sous MS Excel), élaborées conformément à la norme NF T 90-395 d'octobre 2003. Ces outils sont téléchargeables gratuitement sur le site du CEMAGREF de Bordeaux. Ils seront à terme intégrés à des guides méthodologiques.

Méthodes de référence

NF T 90-395 (octobre 2003). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice biologique macrophytique en rivière (IBMR) (Indice de classement : T90-395).

NF EN 14184 (avril 2004). Qualité de l'eau – Guide pour l'étude des macrophytes aquatiques dans les cours d'eau (Indice de classement : T90-356).

2.6 Indice poissons rivière (IPR)

Principe

La détermination de l'Indice Poissons Rivière (IPR) consiste à mesurer, sur une station donnée, l'écart entre la composition du peuplement observé à partir d'un échantillonnage par pêche électrique et la composition du peuplement attendue en situation de référence.

Adapté à une faune piscicole, il s'applique uniquement aux cours d'eau de France métropolitaine (sans compter la Corse en raison de la spécificité de sa faune piscicole). L'application de ce paramètre est déconseillée pour les secteurs de sources, les « saumâtres », zones de marais et les grands cours d'eau profonds.

Échantillonnage piscicole

L'échantillonnage est effectué par la réalisation d'une pêche électrique. Cette pêche est pratiquée sur une portion de cours d'eau d'au minimum 150 mètres. La stratégie de prospection diffère selon les situations :

– si la station est entièrement prospectable à pied (profondeur < 0,7 m) et que sa largeur est inférieure à 8 mètres, le cours d'eau est prospecté sur toute sa largeur,

– si la station est entièrement prospectable à pied (profondeur < 0,7 m) mais que sa largeur est supérieure à 8 mètres, le cours d'eau est prospecté partiellement,

– pour une station non entièrement prospectable à pied, la prospection est également partielle.

La prise des espèces est réalisée grâce à des électrodes. Entre la cathode immergée et l'anode manipulée par l'opérateur s'établit un champ électrique. Le poisson est attiré par l'anode dans un rayon d'environ 1 mètre. Il est alors capturé à l'aide d'une épuisette et placé dans un bac pour mesure (taille, poids) et identification. Après identification, les poissons capturés sont remis à l'eau.

La tension appliquée entre les 2 électrodes est de 300 à 600 volts, avec une intensité de 2 à 8 ampères. Ces paramètres peuvent être ajustés en fonction de la température de l'eau, de la salinité du milieu, de la profondeur et de la taille et des espèces de poissons présents.

Méthodologie de détermination de l'IPR

La détermination de l'IPR prend en compte 34 espèces ou groupes d'espèces, choisies pour leur caractère représentatif du territoire français en situation de référence (voir liste ci-après). La signification de la codification (ou métrique) étant explicitée au tableau de la page suivante.

Liste des espèces utilisées pour le calcul de l'IPR

Famille *Espèce*	Nom commun	Code	NTE	NER	NEL	DIT	DII	DIO	DTI
Petromyzontidae									
Lampero planeri	Lamproie de Planer	LPP	X		X				X
Anguillidae									
Anguilla anguilla	Anguille	ANG	X				X		X
Salmonidae									
Salmo trutta fario	Truite	TRF	X	X	X		X		X
Salmo salar	Saumon	SAT	X	X	X		X		X
Thymallidae									
Thymallus thymallus	Ombre commun	OBR	X	X	X		X		X
Esocidae									
Esox lucius	Brochet	BRO	X						X
Cyprinidae									
Phoxinus phoxinus	Vairon	VAI	X		X				X
Gobio gobio	Goujon	GOU	X				X		X
Leuciscus leuciscus	Vandoise	VAN	X	X				X	X
Leuciscus cephalus	Chevaine	CHE	X			X		X	X
Leuciscus souffla	Blageon	BLN	X	X					X
Chondrostoma nasus	Hotu	HOT	X	X	X				X
Chondrostoma toxostoma	Toxostome	TOX	X	X	X			X	X
Barbus barbus	Barbeau	BAF	X	X	X				X
Barbus meridionalis	Barbeau méridional	BAM	X	X	X				X
Cyprinus carpio	Carpe	CCO	X					X	X
Carassius sp.	Carassin	CAS	X					X	X
Tinca tinca	Tanche	TAN	X					X	X
Blicca bjoerkna *et Abramis brama*	Brême	BBB	X			X		X	X
Rutilus rutilus	Gardon	GAR	X			X		X	X
Scardinius erythrophtlamus	Rotengle	ROT	X					X	X
Rhodeus amarus	Bouvière	BOU	X						X
Alburnoides bipunctatus	Spirlin	SPI	X	X	X		X		X
Alburnus alburnus	Ablette	ABL	X			X		X	X
Cobitidae									
Barbatula barbatula	Loche franche	LOF	X			X			X

Famille *Espèce*	Nom commun	Code	NTE	NER	NEL	DIT	DII	DIO	DTI
Ictaluridae									
Ictalurus melas	Poisson chat	PCH	X		X		X		X
Gadidae									
Lota lota	Lote	LOT	X	X					X
Gasterosteidae									
Gasterosteus aculeatus	Epinoche	EPI	X			X		X	X
Pungitius pungitius	Epinochette	EPT	X					X	X
Centrarchidae									
Lepomis gibbosus	Perche soleil	PES	X				X		X
Percidae									
Perca fluviatilis	Perche	PER	X						X
Stizostedion lucioperca	Sandre	SAN	X						X
Gymnocephalus cernuus	Grémille	GRE	X				X		X
Cottidae									
Cottus gobio	chabot	CHA	X	X	X		X		X

Des différences caractéristiques des peuplements (appelés « métriques ») sont utilisées pour évaluer le niveau d'altération des peuplements de poissons. Ces métriques (au nombre de 7), qui interviennent dans le calcul de l'IPR sont représentés dans le tableau ci-dessous. Les trois premiers métriques de ce tableau sont basés sur l'occurrence des espèces, et les quatre suivants concernent l'abondance des individus. La réponse de ces espèces aux pressions anthropiques est explicitée sur ce tableau, les individus tolérants et omnivores montrant les meilleures aptitudes à résister à des flux polluants.

Métrique	Abréviation	Réponse des espèces aux pressions anthropiques
Nombre total d'espèces	NTE	↗ ou ↘
Nombre d'espèces rhéophiles	NER	↘
Nombre d'espèces lithophiles	NEL	↘
Densité d'individus tolérants	DIT	↗
Densité d'individus invertivores	DII	↘
Densité d'individus omnivores	DIO	↗
Densité totale d'individus	DTI	↗ ou ↘

Calcul de l'IPR

Outre les résultats de l'échantillonnage décrit ci-dessus, la détermination de l'IPR s'appuie sur plusieurs données complémentaires concernant des données environnementales. Il s'agit de 8 variables quantitatives (surface du bassin versant drainé, distance à la source, largeur et profondeur moyennes de la station, pente du cours d'eau, altitude, température moyenne inter-annuelle de l'air respectivement des mois les plus chauds et les plus froids).

Pour chaque station, le calcul de l'IPR prend ensuite en compte :

– la valeur observée pour chaque métrique,

– la valeur attendue pour chaque métrique en situation de référence,

– la probabilité de présence des espèces piscicoles en situation de référence,

– le score associé à chacun des 7 métriques.

Il s'agit de calculs longs et relativement complexes. Un outil de calcul a donc été développé par l'ONEMA (Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques) (anciennement CSP : Conseil Supérieur de la Pêche). Cet outil développé sous Excel est disponible sur le site de l'ONEMA (www.onema.fr).

Le calcul conduit à l'établissement d'une note pour chaque station. Cette note peut atteindre des valeurs supérieures à 36 pour des milieux de très mauvaise qualité et la codification retenue pour qualifier le milieu (avec le code couleur correspondant) est la suivante :

Note de l'IPR	IPR < 1	1 < IPR < 16	16 < IPR < 25	25 < IPR < 36	IPR > 36
Classe de qualité	excellente	bonne	médiocre	mauvaise	très mauvaise
Code couleur	bleu	vert	jaune	orange	rouge

Une valeur d'IPR de 0 est attribuée aux stations dont le peuplement évalué est identique à celui de la situation de référence.

Méthodes de référence

NF T 90-344 (mai 2004). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice poissons rivière (IPR).

NF EN 14011 (juillet 2003). Qualité de l'eau – Échantillonnage des poissons à l'électricité (Indice de classement : T90-358).

3 • BIOMASSE VÉGÉTALE PLANCTONIQUE

Dans les écosystèmes aquatiques, le plancton végétal est le premier maillon biologique des chaînes alimentaires. Les algues microscopiques qui constituent le phytoplancton des eaux douces sont pour la majorité des organismes photosynthétiques. Leur croissance dépend de la disponibilité en nutriments et de la présence de toxiques, de la température et de la lumière. Dans certaines conditions, avec des apports élevés de nutriments, la croissance excessive de ce phytoplancton conduit à une situation d'eutrophisation.

Les proliférations algales dans les eaux de surface (éventuellement dans les plans d'eau et les retenues) sont à l'origine de nombreuses nuisances, dont les plus fréquentes sont une coloration des eaux et la présence d'odeurs. Lors des traitements pour la production d'eau potable, ils sont également la source de nombreux désagréments : surconsommation des réactifs oxydants (ozone, chlore), colmatage des membranes, émergence de mauvais goûts pour le consommateur (présence de métabolites au goût de moisi).

3.1 Chlorophylle et phéopigments

Toutes les plantes vertes contiennent de la chlorophylle *a* et le dosage de cette chlorophylle *a* peut donc être utilisé comme indicateur de la biomasse algale. On sait en effet que la chlorophylle *a* représente en moyenne 1 à 2 % du poids sec des algues phytoplanctoniques. Les autres pigments du phytoplancton proviennent pour partie des chlorophylles b et c.

La quantité de phytoplancton présente dans l'eau peut être estimée par la mesure des pigments chlorophylliens présents, soit sous forme dite active, la chlorophylle, soit sous forme dégradée, les phéopigments. La mesure des phéopigments est utilisée comme critère de l'état physiologique des populations phytoplanctoniques : plus la proportion de phéopigments est élevée par rapport à celle de la chlorophylle *a*, plus les cellules algales sont vieilles et dégradées.

La spectrométrie d'absorption moléculaire ou la spectrométrie de fluorescence constitue les principales techniques de détection et de quantification de ces composés, la séparation des composés pouvant être réalisée par chromatographie liquide haute performance.

3.1.1 Dosage des chlorophylles *a* et *b* par HPLC

■ Principe

Après filtration sur membrane pour récuperer le plancton végétal, la chlorophylle est extraite par éclatement cellulaire sous ultrasons en présence de méthanol.

Les chlorophylles *a* et *b* sont séparées par chromatographie liquide haute performance (CLHP) et détectées par spectrofluorimétrie.

☐ Matériel spécial

– Filtre en fibre de verre (dimension des pores : 0,45 µm).
– Système de filtration sous vide.
– Bac à ultrasons.
– Microbalance.
– Chromatographe CLHP équipé :
  - d'une pompe à débit constant variant de 0,7 à 2 mL/min,
  - d'un injecteur permettant l'injection de volumes compris entre 50 et 200 µL,
  - d'une colonne opérant en phases inversées (par exemple silice griffée C18),
  - d'un détecteur fluorimétrique équipé d'un monochromateur permettant d'exciter à la longueur d'onde de 427 nm, et d'un filtre pour détecter les longueurs d'onde d'émissions supérieures à 470 nm.

☐ Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité suffisante pour une utilisation en CLHP et détection par fluorimétrie.

– Méthanol absolu.
– Hexane.
– Solution mère étalon de chlorophylle *a* à 100 mg/L :

chlorophylle *a*		25 mg
méthanol absolu	*q.s.p.*	250 mL

– Solution mère étalon de chlorophylle *b* à 100 mg/L :

chlorophylle *b*		25 mg
méthanol absolu	*q.s.p.*	250 mL

À – 20 °C et à l'obscurité, ces deux solutions se conservent au maximum un mois. Avant chaque utilisation, contrôler par CLHP que les chlorophylles *a* et *b* ne sont pas dégradées.

– Solution de fluoranthène à 300 mg/L (étalon interne) :

fluoranthène		30 mg
hexane	*q.s.p.*	100 mL

À 4 °C et à l'obscurité, cette solution peut se conserver un mois.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir des solutions mères de solution étalons de chlorophylle *a* et *b*, préparer des dilutions à 2 mg/L dans le méthanol absolu. Ajouter dans chacune des solutions la même quantité de fluoranthène utilisé comme étalon interne, puis chromatographier comme décrit dans le mode opératoire.

■ Mode opératoire

Agiter les flacons de prélèvements pour homogénéiser les échantillons. Filtrer sur le filtre en fibre de verre un volume d'échantillon défini par la

durée de filtration qui ne doit pas dépasser 10 min en évitant une trop forte dépression.

Introduire le filtre dans un bécher contenant 5 mL de méthanol absolu puis placer le bécher 20 min dans un bac à ultrasons, à l'obscurité.

Laisser au repos 10 minutes.

Filtrer l'extrait sur un nouveau filtre en fibre de verre. Rincer le bécher et le filtre avec 4 à 5 mL de méthanol absolu utilisés en 3 ou 4 fractions. Réunir le solvant de rinçage à l'extrait (il peut être conservé 24 h à – 20 °C). Au volume final de l'extrait (10 mL environ), ajouter une quantité connue d'étalon interne (de l'ordre de 20 µL de la solution de fluoranthène à 300 mg/L pour 10 ml d'extrait.) Injecter la solution ainsi préparée dans le chromatographe.

■ Interprétation des chromatogrammes

Identifier et quantifier les pics en se référant aux chromatogrammes obtenus avec les solutions étalons et l'échantillon.

■ Expression des résultats

Les teneurs en chlorophylle *a* et *b* de l'échantillon sont exprimées en microgrammes par litre.

Remarques

– La limite de détection de la méthode est de l'ordre de 0,1 µg/L pour chacune des chlorophylles *a* et *b*.

– Pour les eaux peu chargées en chlorophylle il est souvent nécessaire de filtrer un volume important d'échantillon (jusqu'à 1 L), à condition que la teneur en matières en suspension dans l'échantillon le permette.

– Les pigments chlorophylliens se dégradent rapidement à la lumière. Les échantillons seront donc transportés et conservés à l'obscurité et au froid (4 à 5 °C) et la manipulation des extraits devra limiter au maximum ces risques de dégradation, même s'il n'est pas possible de l'éviter totalement.

– Il est souhaitable de ne pas dépasser un délai de 6 heures entre le prélèvement et l'extraction. Les extraits peuvent ensuite être congelés avant l'analyse.

Méthodes de référence

Norme expérimentale T 90-116 (décembre 1984). Essais des Eaux – Dosage des chlorophylles *a* et *b* par chromatographie liquide haute performance (CLHP) – Méthode de référence.

ISO 10260 (juillet 1992). Qualité de l'eau. Mesurage des paramètres biochimiques. Dosage spectrométrique de la chlorophylle *a*.

3.1.2 Dosage de la chlorophylle *a* et de l'indice phéopigments par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Après filtration sur membrane pour isoler et concentrer le plancton végétal, la chlorophylle et les phéopigments sont extraits sur le filtre par de

l'acétone dans un bain à ultrasons. L'absorbance mesurée à différentes longueurs d'onde permet le calcul des concentrations en chlorophylle et en phéopigments.

Deux méthodes de lecture d'absorbance et de calcul des concentrations sont utilisées :

– la méthode SCOR-UNESCO est basée sur la mesure de l'absorbance de l'extrait à 750 nm, 663 nm, 645 nm, 630 nm, 430 nm et 410 nm,

– la méthode de Lorenzen consiste à mesurer l'absorbance à 2 longueurs d'onde (750 nm et 665 nm) sur l'extrait non acidifié puis sur le même extrait après acidification (en milieu acide, la chlorophylle *a* produit de la phéophytine *a*).

Dans les deux cas, les équations pour le calcul des concentrations intègrent des facteurs empiriques.

☐ **Matériel**

– filtres en fibre de verre : diamètre de pores d'environ 1 μm,
– système de filtration sous vide ou sous pression,
– bac à ultrasons,
– spectromètre, équipé de cuves de trajet optique de 10 mm ou 50 mm.

☐ **Réactifs**

– acétone ;
– solvant d'extraction : acétone à 90 % (V/V) :

acétone		450 mL
eau déionisée	q.s.p.	500 mL

Compte tenu du caractère volatil de l'acétone, cette solution doit être stockée en flacon bien fermé et conservée au maximum 2 à 3 jours.

– acide chlorhydrique 5 N (5 mol/L).

■ Échantillonnage et conservation des échantillons

Prélevés dans des flacons remplis à ras bord et sans bulle d'air, les échantillons doivent être transportés à l'obscurité et au froid (4 à 5 °C) et la récupération du plancton végétal par filtration doit être effectué dans les 6 heures qui suivent le prélèvement.

En présence de particules macroscopiques l'échantillon sera tamisé sur un tamis d'environ 200 μm.

■ Protocole d'extraction des pigments planctoniques

Récupération du plancton végétal par filtration

Filtrer l'échantillon sur un filtre en fibre de verre d'un diamètre de pores de 1 à 2 μm moins de 6 heures après le prélèvement. Prendre soin d'appliquer une dépression aussi faible que possible afin de ne pas provoquer l'éclatement des cellules.

Le volume filtré pourra être de l'ordre de 100 mL pour les eaux chargées en plancton végétal, mais dans la majorité des cas un volume de 1 L conviendra.

Si les étapes suivantes de la procédure analytique ne peuvent pas être réalisées immédiatement, le filtre sec peut être conservé à – 20 °C pendant une durée maximale de 1 mois.

Extraction de la chlorophylle et des phéopigments par l'acétone

Placer le filtre en fibres de verre dans un bécher recouvert de papier d'aluminium et contenant 10 à 25 mL d'acétone à 90 %. Maintenir le bécher à l'obscurité. *Choisir le diamètre du bécher et le volume d'acétone pour permettre d'immerger le filtre dans l'acétone.*

Placer le bécher dans un bac à ultrasons à l'obscurité et soniquer pendant 20 minutes à température ambiante avant de laisser reposer 10 minutes.

Filtrer l'extrait sur un filtre en fibre de verre. Rincer le bécher et le filtre avec de l'acétone et ajouter le solvant de lavage à l'extrait.

Transvaser le filtrat dans une fiole jaugée et compléter au volume (10 à 25 mL) avec de l'acétone pure.

Maintenir la fiole à l'obscurité et effectuer les mesures d'absorbance dans un délai très court (quelques minutes).

Préparation d'une solution de référence (pour le zéro du spectromètre)

Placer un filtre en fibre de verre dans un bécher identique à celui utilisé précédemment. Ajouter 10 à 25 mL d'acétone. Mettre sous ultrasons pendant 20 minutes. Placer l'extrait dans la cuve du spectrophotomètre pour régler le zéro d'absorbance aux différentes longueurs d'onde utilisées.

■ Protocoles de détermination de l'absorbance des extraits

Méthode de Lorenzen

Dans une première étape, l'absorbance est mesuré directement sur l'extrait à 750 nm et 665 nm. L'extrait est ensuite acidifié avant de faire une nouvelle mesure aux 2 longueurs d'onde.

L'acidification est réalisée directement dans la cuve du spectromètre par ajout d'environ 10 μL d'acide chlorhydrique 5 N dans une cuve de 5 à 10 mL. La cuve est ensuite soigneusement bouchée et agitée.

La dégradation des phéopigments est rapide et prend au maximum quelques minutes. On mesure donc l'absorbance à 665 et 750 nm toutes les 30 secondes jusqu'à 4 minutes (par rapport au blanc préparé précédemment). Et les mesures d'absorbance choisies pour les calculs seront les valeurs minimales obtenues.

Si l'absorbance mesurée est trop importante, l'extrait peut être dilué avec de l'acétone.

La notation des absorbances sera la suivante :

	750 nm	665 nm
Extrait non acidifié	A_0750	A_0665
Extrait acidifié	A_a750	A_a665

Méthode SCOR-UNESCO

L'absorbance est mesurée uniquement sur l'extrait non acidifié. Les longueurs d'onde retenues sont : 750 nm, 663 nm, 645 nm, 630 nm, 430 nm et 410 nm. La mesure est faite par rapport au blanc préparé précédemment.

Soient $A_0\lambda$ les absorbances mesurées aux différentes longueurs d'onde.

Si l'absorbance mesurée est trop importante, l'extrait peut être dilué avec de l'acétone.

Contrôle du protocole d'extraction

Pour les 2 méthodes, l'absorbance mesurés à 750 nm (A_0750) ne doit pas excéder 0,010 pour une cuve d'un trajet optique de 10 mm. Une valeur supérieure indique une turbidité trop élevée de l'extrait. Une centrifugation de l'extrait (10 minutes à environ 3500 g) devrait permettre d'éliminer cette turbidité.

Présentations des résultats

Méthode de Lorenzen

Les concentrations en chlorophylle *a* (C_a) et en phéopigments (P_a) dans l'échantillon, exprimées en μg/L se calculent comme suit :

$$C_a = 27 \frac{v}{l \cdot V} [(A_0665 - A_0750) - (A_a665 - A_a750)]$$

$$P_a = 27 \frac{v}{l \cdot V} [1{,}7 (A_a665 - A_a750) - (A_0665 - A_0750)]$$

Avec :

$A_0\lambda$ et $A_a\lambda$	respectivement les absorbances avant et après acidification.
V	le volume (en mL) d'acétone utilisé.
V	le volume (en L) d'échantillon filtré.
l	le trajet optique de la cuve de mesure (en cm).
27	un facteur déterminé expérimentalement.
1,7	un facteur déterminé expérimentalement.

Méthode SCOR-UNESCO

Les résultats permettent de calculer :

– La concentration brute en chlorophylle *a* (C) en μg/L.

– L'indice de dégradation (ID) de la chlorophylle.

– Le pourcentage P de chlorophylle *a* dans l'échantillon.

– La concentration en chlorophylle *a* (C_a) en μg/L, corrigée grâce à une équation trichromatique (cette valeur corrigée est très voisine de celle obtenue par la méthode de Lorenzen).

– La concentration en indice phéopigments (P_a) en μg/L.

$$C = \frac{v}{l \cdot V} [11{,}64 (A_0663 - A_0750) - 2{,}16 (A_0645 - A_0750) + 0{,}10 (A_0630 - A_0750)]$$

$$ID = \frac{A_0430 - A_0750}{A_0410 - A_0750}$$

$$P = 59{,}0 + 137{,}6 \ln ID$$

$$C_a = C \cdot \frac{P}{100}$$

$$P_a = C - Ca$$

Avec :

A_0750, A_0663, A_0645, A_0630, A_0430, A_0410, les absorbances respectives de l'extrait aux longueurs d'onde 750nm, 663 nm, 645 nm, 630 nm, 430 nm et 410 nm.

v le volume (en mL) d'acétone utilisé.

V le volume (en L) d'échantillon filtré.

l le trajet optique de la cuve de mesure (en cm).

Méthodes de référence

NF T 90-117 (décembre 1999). Qualité de l'eau – Dosage de la chlorophylles *a* et d'un indice phéopigments – Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire.

3.2 Efflorescences de cyanobactéries

3.2.1 Cyanobactéries et cyanotoxines

Certaines algues, et en particulier les cyanobactéries ou cyanophycées (encore appelées algues bleues ou algues bleues/vertes) peuvent produire plusieurs types de toxines (les cyanotoxines), susceptibles d'agir sur des organes cibles différents (foie, système nerveux, reins, intestins). Ces toxines intracellulaires, synthétisées par les cellules en croissance, sont le plus souvent libérées lors de la lyse des algues.

Les cyanobactéries sont des procaryotes photosynthétiques, qui outre les propriétés spécifiques aux bactéries possèdent des caractéristiques propres aux algues. Comme les algues, la plupart des cyanobactéries possèdent en effet de la chlorophylle *a* et réalisent une photosynthèse productrice d'oxygène. Ces algues trouvent alors les conditions favorables à leur développement dans les eaux moyennement ou fortement eutrophisées. Leur production rapide et massive (souvent qualifiée d'efflorescence ou de bloom algal) conduit parfois à un changement de couleur de l'eau.

Plusieurs espèces de cyanobactéries sont potentiellement toxiques. Une même espèce de cyanobactéries peut produire plusieurs cyanotoxines et certaines toxines peuvent provenir d'espèces différentes. Les microcystines (et en particulier la microcystine-LR) sont des hépatotoxines et ce sont les toxines de cyanobactéries les plus fréquemment retrouvées lors des épisodes de prolifération algale. La production de ces microcystines a déjà été observée chez des cyanobactéries du genre *Microcystis* (tel que *Microcystis aeruginosa*), mais aussi chez des espèces des genres *Anabaena*, *Planktothrix* ou *Nostoc*. Plus de 70 variants de microcystines sont identifiés à ce jour. La microcystine-LR qui présente une toxicité élevée sur la souris (DL_{50} = 5 à 10 mg/kg pour une administration orale) est

la molécule la plus recherchée dans les eaux ; c'est actuellement la plus étudiée et la mieux connue.

D'un intérêt sanitaire moindre, on peut également identifier dans les eaux d'autres hépatotoxines (les nodularines, la cylindrospermopsine et ses analogues), des neurotoxines (anatoxines, saxitoxine et ses dérivés) ou des molécules à effets irritants. L'ensemble de ces toxines possède une grande variété de structures chimiques.

En cas de prolifération algale dans les eaux brutes, le code de la santé publique a introduit une limite de qualité de 1 μg/L pour le paramètre microcystine-LR dans les eaux destinées à la consommation humaine. Depuis janvier 2007 cette limite de qualité s'étend à la microcystine totale.

3.2.2 Détection des proliférations, analyse des cyanobactéries

■ Surveillance des croissances phytoplanctoniques

La présence d'algues dans les eaux peut être estimée par analyse de la chlorophylle *a* (voir dosage ci-dessus). En effet, la quantité de chlorophylle *a* est corrélée à la biomasse vivante des organismes photosynthétiques (algues et cyanobactéries). La sensibilité de ces méthodes permet de détecter les efflorescences algales à un stade précoce.

La composition pigmentaire des cyanobactéries rend également possible leur détection et leur quantification par spectrométrie UV ou par mesure de la fluorescence émise par les cellules excitées par une radiation de longueur d'onde convenable. Ce principe a donné lieu à la commercialisation de sondes de mesure utilisables sur le terrain. La sonde fluorimétrique MicroFlu Blue (société Aqua MS) mesure en continu dans l'eau la concentration en phycocyanine, pigment bleu spécifique de la plupart des cyanobactéries. La sonde Fluoroprobe (société Bionef) permet de suivre l'évolution des principaux groupes phytoplanctoniques présents (algues vertes, diatomées, cyanobactéries) en mesurant par fluorescence la chlorophylle-*a*. Quant à la station Aquapod (société HOCER), elle semble capable de détecter et de quantifier la concentration cumulée de toutes les formes de microcystines (-LR, -YR, -RR…) avec une limite de détection proche de 1 μg/l et une limite de quantification de 2-3 μg/l. Le module intègre une cellule de préconcentration sur cartouche suivie d'une détection par spectrométrie UV.

Les retours d'expérience sur ces outils de terrain sont encore peu nombreux mais semblent prometteurs. Cependant, ces informations sur la croissance algale doivent souvent être complétées par des données plus précises et plus sensibles sur la présence et la concentration de cyanotoxines pour l'évaluation des risques.

■ Analyse des cyanotoxines

De nombreuses techniques de détection et/ou de quantification des microcystines (-LR, -YR et -RR) sont décrites dans la bibliographie (tests enzymétriques phosphatase, bio-essais sur souris, poissons, crustacés, bactéries pour évaluer l'effet toxique, HPLC avec détection UV ou fluorimétrique, essais immunologiques…) mais l'identification univoque et le

dosage des différentes molécules d'une famille nécessite le recours à une séparation chromatographique.

Cependant aucune méthode n'a encore fait l'objet d'une normalisation en Europe.

Dosage des microcystines

Les microcystines sont analysées par HPLC après filtration, concentration et purification (cf § A.10.19 dosage de la microcystine-LR). La séparation des microcystines s'effectue en phase inverse sur des colonnes de type C18 et la détection est réalisée par un spectromètre UV, par un détecteur à barrette de diodes (à 238 nm) ou par spectrométrie de masse.

Pour les autres microcystines (-YR et -RR) éventuellement présentes, cette méthode HPLC peut permettre de les quantifier lorsque les étalons sont disponibles.

Une méthode immunologique (immuno-essai ELISA) avec un kit commercial peut également être employée pour l'analyse des microcystines mais elle n'assure pas une quantification aussi précise que la méthode HPLC.

Méthodes de référence

ISO 20179 (octobre 2005). Qualité de l'eau – Dosage des microcystines – Méthode utilisant l'extraction en phase solide (SPE) et la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection dans l'ultraviolet (UV).

DIN ISO 20179 (octobre 2007). Water quality – Determination of microcystins – Method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection (ISO 20179 : 2005).

NF EN 15204 (décembre 2006). Qualité de l'eau – Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl) (Indice de classement : T90-379).

4 • LES TESTS DE TOXICITÉ OU BIOESSAIS

Depuis plus de 30 ans, des tests sont développés en écotoxicologie pour prévoir ou quantifier les effets des pollutions sur les écosystèmes aquatiques et en particulier sur les eaux naturelles. Ils permettent d'évaluer la toxicité aiguë ou chronique d'effluents sur des populations d'organismes vivants mis en expérimentation. Réalisés essentiellement *in vitro*, ils consistent à exposer une population connue d'organismes aquatiques à un polluant pour estimer les concentrations provoquant un effet toxique. Ces tests prennent majoritairement en compte la mortalité des individus comme seul critère d'évaluation de la toxicité, cette mortalité résultant de la concentration et de la toxicité des milieux testés. Les données permettent d'accéder à la concentration létale, ou à la dose létale.

Les méthodes développées pour les essais toxicologiques font le plus souvent appel à une espèce unique (tests monospécifiques) et ils donnent rarement des informations sur le mode d'action ou la cible biologique des polluants (altérations biochimiques, physiologiques, cellulaires, moléculaires, effets sublétaux, troubles de la reproduction ou de la croissance, potentiel génotoxique, mutations génétiques…).

Le plus souvent, ils apportent une estimation de la dose qui affecte 50 % de la population exposée (inhibition de mobilité ou mortalité) : c'est la concentration efficace CE_{50} ou dose létale DL_{50}, cette donnée étant complétée par la durée du test (ainsi, la $DL_{50\text{-}24h}$ est la dose qui provoque la mortalité de 50 % des individus exposés pour un temps de contact de 24 h).

Les tests de toxicité aiguë sont pratiqués sur des périodes courtes (quelques heures à quelques jours), dont la durée varie en fonction du temps de génération de l'organisme concerné, au contraire des tests de toxicité chronique (ou toxicité à moyen ou long terme). Mais il existe également des tests permettant d'étudier la toxicité chronique (ou sub-chronique), la génotoxicité (mutation génique), la cancérogénicité (induction de gènes impliqués dans la promotion tumorale), la reprotoxicité (tératogenèse, diminution de la fertilité, mortalité embryonnaire), l'immunotoxicité, la neurotoxicité…

4.1 Sélections des organismes tests

Les tests de toxicité développés pour l'étude des milieux aquatiques font appel à une très grande variété d'organismes (voir tableau ci-après). Le critère majeur qui régit le choix de ces organismes-tests est l'apparte-

nance à des classes d'organismes représentatifs de la chaîne trophique dans les eaux douces. Ce sont donc pour la plupart des décomposeurs (bactéries), des producteurs (algues, macrophytes), des consommateurs primaires (micro et macrocrustacés) ou des consommateurs secondaires (poissons).

La durée nécessaire pour ces tests (cf. tableau ci-après) varie de quelques minutes à quelques jours et le paramètre mesuré peut conduire à des informations très diverses : toxicité aiguë, subchronique ou à terme, diminution ou inhibition de croissance, ou encore effets génotoxiques.

Ce tableau rapporte essentiellement les tests applicables aux eaux douces, même si certains d'entre eux peuvent s'utiliser également pour les eaux saumâtres, les zones estuairiennes et les eaux de mer.

Dans les paragraphes qui suivent, il a été choisi de ne développer que les tests les plus habituellement pratiqués par les laboratoires pour la recherche du risque toxique dans les eaux.

Bioessais applicables à la détermination de la toxicité des eaux

Organismes tests		Paramètre mesuré (durée d'exposition)	Références
Catégories	Espèce		
Cellules	Eucaryotes	Génotoxicité (détérioration de l'ADN) (Test des Comètes)	V.J. McKelvey-Martin *et al.*, *Mutation Research*, 1993, 288, 47.
Bactéries	*Pseudomonas putida*	Inhibition de la multiplication (16 h ± 1 h)	NF EN ISO 10712 (février 1996)
	Vibrio fischeri qui a progressivement remplacé *Photobacterium phosphoreum*	Inhibition de luminescence (5 min, 15 min, 30 min) (test « Microtox »)	NF ISO 11348-1 (mars 2008) NF ISO 11348-2 (mars 2008) ISO 11348-3 (mars 2008)
	Escherichia coli K-12	Génotoxicité (expression du gène de réparation de l'ADN) SOS Chromotest	P. Quillardet *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1985, 79, 5971-5975 P. Quillardet and M. Hofnung, Mutation Research, 1993, 297 (3), 235-279
	Salmonella typhimurium TA98 ou TA100	Mutagénicité (test d'Ames ou Mutatest)	B.N. Ames *et al.*, Mutation Research, 1975, 31, 347.
Protozoaires ciliés	*Colpidium campylum* *Colpoda cucculus* *Tetrahymena thermophila*	Inhibition de croissance	G.L. Gilron and D. H Lynn, In P. Wells, C. Blaise and K. Lee, Microscale aquatic Toxicology – Advances, Techniques an Practice, 1998, 323.
Levures	Levures génétiquement modifiées : *Saccharomyces cerevisiae*	Activité œstrogène des polluants YES (Yeast œstrogen screen)	E.J. Routledge and J.P. Sumpter. Environmental Toxicology and Chemistry. 1996 , 15 (3), 241-248

Organismes tests		Paramètre mesuré (durée d'exposition)	Références
Catégories	**Espèce**		
Algues planctoniques d'eau douce (algues vertes unicellulaires)	*Scenedesmus subspicatus* [Chlorococcales, (Chlorophytes, Chlorophycées)] *Selenastrum capricornutum* [Chlorococcales, (Chlorophytes, Chlorophycées)]	Diminution de la croissance cellulaire (24 h)	ISO 8692-2004
	Selenestranum capricornutum *Microcystis aeruginosa* *Anabaena flos-aquae* *Cyclotella* sp. *Nitzschia* sp. *Synedra* sp.		Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
	Selenastrum capricornutum De plus en plus souvent remplacée par : *Pseudokirchneriella subcapitata*	Impact de nutriments sur le potentiel de croissance et sur la productivité algale	NF EN ISO 8692. Mai 2005
	Monochrysis lutheri	Inhibition de croissance (≥ 5 j)	Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
Algues marines	*Skeletonema costatum* *Phaeodactylum tricornutum* *Macrocystis pyrifera*	Diminution de la croissance cellulaire (24 h)	ISO 10253 – avril 2006
	Ceramium tenuicorne	Inhibition de croissance	PR NF ISO 10710. Février 2009
Lentilles d'eau	*Lemna minor*	Inhibition de croissance (4 j)	NF EN ISO 20079 (décembre 2008)
	Lemna minor *Lemna gibba* *Lemna perpusilla* *Lemna pancicostata* *Lemna polyrrhiza*	Inhibition de croissance (96 h)	Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
Roseaux	*Echinochloa crusgalli* *Leersia oryzoides* *Nelumbo lubea* *Oryza sativa* *Rorippa nasturtium-aquaticum* *Zizania aquatica*	Allongement des roseaux ou quantification de la biomasse (120 h)	Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
Légumineuses	*Vicia faba*	Effets génotoxiques (apparition de micronoyaix dans les racines secondaires)	NF T 90 327 – mars 2004
Macrophytes émergents	*Myriophillum sibricum* Lotus américain : *Nelumbo lutea* Millet japonais : *Echinochloa crusgalli* Riz sauvage : *Zizania aquatica*	Phytotoxicité des polluants (influence sur germination, croissance, poids sec)	American Society for Testing and Materials (ASTM). E1598-94 (2001)

Organismes tests		Paramètre mesuré (durée d'exposition)	Références
Catégories	**Espèce**		
Annélides	Indice oligochète	Richesse taxonomique de l'échantillon et pourcentage des formes les plus tolérantes à la pollution (famille des *Tubificidae*)	NF T90-390. Avril 2002. Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
	Tubificidés: *Limnodrilus hoffmeisteri* *Tubifex tubifex* *Branchiura sowerbyi* Lombriculidés: *Stylodrilus heringianus* *Lumbriculus variegatus*	Toxicité aiguë, toxicité à moyen et long terme	American Society for Testing and Materials (ASTM). E1562-00, 2004, Vol. 11.05
Mollusques d'eau douce	*Ellipstio complanata* *Corbicula fluminae* *Sphaerium simile* *Dreissena polymorpha* *Anondonta imbecillis*	Toxicité sur le développement larvaire	
Mollusques marins	Huîtres: *Crassostrea gigas, Crassostrea virginica, Ostrea lurida*	Toxicité à court terme (toxicité 48 h sur embryons – diminution moyenne de croissance en 96 h) Toxicité à long terme (inhibition de croissance en 3 à 4 mois)	NF T90-390. Avril 2002. Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
	Clams: *Merceneria mercenaria, spisula solidissima, Mulina balthica*		
	Moules: *Mytilus edulis*		
Autres micro-invertébrés et invertébrés aquatiques	Plécoptères, Trichoptères, Ephéméroptères, Diptères	Toxicité à court terme (3 j, 7 j) ou à long terme (90 j à 120 j)	Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
	Kystes de rotifères: *Brachionus calyciflorus* *Brachionus rubens* *Brachionus patulus* *Philodina roseola*	Toxicité aiguë (24 h)	American Society for Testing and Materials (ASTM) E1440-91
	Pteronarcys dorsata Hexagenia bilineata Chironomus plumosus …	Toxicité à long terme, éventuellement à court terme	American Society for Testing and Materials (ASTM). E729-96, Annual book of ASTM Standards, 2004, Vol. 11.05
	Chironomous riparius	Toxicité des sédiments d'eau douce	XP T 90339-1 (avril 2004)

Organismes tests		Paramètre mesuré (durée d'exposition)	Références
Catégories	**Espèce**		
Microcrustacés	*Daphnia magna Straus* (Cladocera, Crustacea)	Toxicité aiguë : Inhibition de mobilité (24 h)	NF EN ISO 6341. Mai 1996 (Indice de classement : T90-301) XP T 90 -380 (juin 2003)
	Daphnia sp (*Daphnia magna, Daphnia pulex)*	Inhibition de mobilité Toxicité à court terme (24 h, 48 h) ou à long terme (21 j)	Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
		Toxicité chronique (7 jours)	NF T 90-378 (décembre 2000)
	Ceriodaphnia dubia	Toxicité chronique (7 jours)	NF T 90 376 (décembre 2000)
		Toxicité à court ou à long terme (essais de survie et de reproduction)	American Society for Testing and Materials (ASTM), E1295-01, Annual book of ASTM Standards, 2004, Vol. 11.05
	Copépodes marins *(Copepoda, Crustacea)*	Toxicité létale aiguë	FD ISO 14669 – août 2003
	Artemia salina (crustacé marin)	Toxicité aiguë	American Society for Testing and Materials (ASTM), E1463-92, Annual book of ASTM Standards, 2004, Vol. 11.05
	Mycidacées*: Neomysis mercedis…*		
Macrocrustacés	*Palaemonetes varians* Nom commun : crevette marine	Toxicité aiguë létale (6 h)	NF T 90-349 – Avril 1997
	Hyalella azteca	Toxicité des sédiments d'eau douce	XP T 90 338-1 (septembre 2003)
	Décapodes d'eau douce : *Cambarus, Procambarus, Orconectes, Palaemonetes kadiakensis*	Toxicité embryonnaire (7 j, 30 j)	American Society for Testing and Materials (ASTM).. E1383-93, Annual book of ASTM Standards, 1993, Vol. 11.05
Amphibiens	Grenouille sud-africaine : *Xenopus laevis*	Tératogénèse embryonnaire FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus)	American Society for Testing and Materials (ASTM) E1439-91
	triton Pleurodèle (*Pleurodeles waltl*) crapaud Xénope (*Xenopus laevis*)	Génotoxicité sur larves d'amphibiens = test Micronoyau Amphibien	NF T90-325 – septembre 2000
	Larves d'amphibiens	Génotoxicité (induction de micronoyaux)	NF ISO 21427-1 (novembre 2006) NF ISO 21427-2 (décembre 2008) NF ISO 21427-1 (novembre 2006)

Organismes tests		Paramètre mesuré (durée d'exposition)	Références
Catégories	**Espèce**		
Poissons d'eau douce	*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) Nom commun : poisson-zèbre	Toxicité aiguë létale (24 h, 48 h, 72 h, 96 h)	ISO 7346-1 : 1996. Part 1 : Static method. 1996. ISO 7346-2 : 1996. Part 2 : Semi-static method. 1996 ISO 7346-3 : 1996. Part 3 : Flow-through method. 1996
	Espèces équivalentes à *Brachydanio rerio :* *Lepomis macrochirus* (Teleostei, Centrarchidae) *Oryzias latipes* (Teleostei, Poeciliidae) *Pimephales promelas* (Teleostei, Cyprinidae) *Poecilia reticulata* (Teleostei, Poeciliidae)		
	Œufs ou embryons de *Brachydanio rerio*	Toxicité aiguë : test DarT (Danio rerio teratogenicity assay)	F. Busquet and coll. Toxicological Sciences 2008 104 (1) : 177-188
	Salmo gairdneri, Richardson (Teleostei, salmonidae) Nom commun : truite arc-en-ciel	Toxicité aiguë (24 h, 48 h, 72 h, 96 h)	NF T 90-305 – Juin 1985
	Oncorhynchus mykiss Nom commun : truite arc-en-ciel *Ictalurus punctatus* Nom commun : poisson chat	Dose létale (96 h)	Standard methods for the evaluation of water and wastewater, 21st edition – 2005
	Embryons et larves de poissons d'eau douce	Toxicité aiguë	FD ISO 12890 – août 2003
Poisson marin	*Dicentrarchus labrax* Nom commun : bar ou loup de mer	Toxicité aiguë (24 h)	Nome expérimentale T 90-307 – Juin 1985

4.2 Protocole général des méthodes d'essai

La réalisation en laboratoire de tests de toxicité comporte généralement la définition des étapes suivantes :

– choix des organismes tests : espèce, souche, âge (formes embryonnaires, jeunes, adultes), etc.,

– choix du milieu d'essai (eau de dilution, substances nutritives, solution témoin),

– dispositif expérimental,

– mode opératoire (concentrations d'essai, température et durée d'incubation, techniques de mesure),

– expression des résultats.

Définition des organismes-tests

Outre leur pertinence aux objectifs analytiques recherchés (sensibilité à la pollution présumée), les organismes destinés aux essais (cf. § C-4.1) doivent satisfaire à un certain nombre d'exigences :

– facilité d'approvisionnement,

– facilité de manipulation et de conservation en laboratoire,

– individus en bonne santé,

– espèces au cycle biologique court (en particulier pour les essais de toxicité chronique),

– méthode de comptage simple et rapide,

– fiabilité et sensibilité de la méthode.

Concernant le critère de santé, il s'agit de reconnaître les individus relativement non stressés, qui devraient donner un résultat valide, ce qui peut être parfois très complexe. Par contre pour la truite arc-en-ciel, on vérifiera seulement que le taux de mortalité n'a pas excédé 2 % au cours de la semaine précédant les essais.

D'un point de vue scientifique, il n'est pas nécessaire de choisir une espèce commune ou indigène. L'évaluation toxicologique d'une situation locale peut faire appel à une espèce exotique, à condition de respecter les milieux de vie (eaux douces ou milieu marin par exemple) et de ne pas choisir d'espèces très éloignées au niveau taxonomique ou possédant des exigences métaboliques particulières.

Principe des essais

Le protocole utilisé procède classiquement selon une succession d'étapes parfaitement standardisée, qui comporte les phases suivantes :

– L'organisme vivant est mis en contact avec le milieu à tester (eau naturelle, effluent, solution du polluant à tester) à différentes concentrations et dans des conditions de milieu adaptées (présence de substances nutritives, température d'incubation, luminosité…).

– Après le temps de contact requis, les effets produits sont mesurés pour chaque concentration de l'échantillon aqueux étudié, avec le matériel adapté (œil nu, microscope, spectromètre, luminomètre…).

– On détermine alors la concentration qui provoque la mortalité (ou l'inhibition de mobilité) de 50 % des organismes mis en jeu. On parle de CE_{50} (Concentration Efficace ou Concentration Efficace inhibitrice) ou de CL_{50} (Concentration Létale).

Le milieu d'essai

Les essais sont conduits dans des conditions parfaitement contrôlées d'éclairement, de température, de milieu de culture ou de support d'élevage. L'accent est mis sur la standardisation et la reproductibilité des mesures réalisées, de manière à obtenir une information fiable sur le phénomène de toxicité.

Toxiques de référence

Toutes les méthodes écotoxicologiques doivent être contrôlées à l'aide de composés dits « toxiques de référence », qui permettent d'une part de

valider le protocole opératoire mis en œuvre dans les laboratoires, mais également de vérifier la sensibilité des organismes utilisés. Les toxiques de référence recommandés dans les tests normalisés font appel à des solutions de composés toxiques minéraux, le plus utilisé étant le Cr^{VI} (dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$). Des sels de cuivre ou de cadmium sont parfois employés pour des espèces marines.

Interprétation des essais de toxicité

La détermination d'une CL_{50} ou d'une DL_{50} donne un chiffre qui est inversement proportionnel à la charge toxique. Il était donc important de définir un indicateur toxique qui varie proportionnellement à la toxicité, c'est sur ce principe qu'est basée la notion d'équitox, correspondant à l'inverse de la CL50.

Certaines législations nationales (par exemple le Code de l'environnement en France) imposent la mesure des matières inhibitrices, qui désignent l'ensemble des polluants des eaux (minéraux et organiques) ayant une toxicité suffisante pour inhiber le développement et/ou l'activité des organismes aquatiques. Cette notion repose sur une mesure de toxicité aigüe dont l'unité est l'Equitox.

Les éléments de statistiques nécessaires à la compréhension des modes d'interprétation utilisés sont disponibles dans les suppléments en ligne de l'ouvrage (www.dunod.com).

Méthodes de référence

NF EN ISO 10712 (février 1996). Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance de {Pseudomonas} {putida} (essai d'inhibition de la multiplication des cellules de {Pseudomonas}) (Indice de classement : T90-342).

NF EN ISO 5667-16 (février 1999). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 16 : lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons (Indice de classement : T90-370).

NF EN ISO 8689-1 (mai 2000). Qualité de l'eau – Classification biologique des rivières – Partie 1 : lignes directrices concernant l'interprétation des données relatives à la qualité biologique à partir d'études des macro-invertébrés benthiques (Indice de classement : T90-355-1).

NF EN ISO 8689-2 (mai 2000). Qualité de l'eau – Classification biologique des rivières – Partie 2 : lignes directrices concernant la présentation des données relatives à la qualité biologique à partir d'études des macro-invertébrés benthiques (Indice de classement : T90-355-2).

NF T90-325 (septembre 2000). Qualité de l'eau – Évaluation de la génotoxicité au moyen de larves d'amphibiens (*Xenopus laevis, Pleurodeles waltl*) (Indice de classement : T90-325).

NF T90-376 (décembre 2000). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Ceriodaphnia dubia en 7 jours – Essai d'inhibition de la croissance de la population (Indice de classement : T90-376).

NF T90-378 (décembre 2000). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Daphnia magna Strauss en 7 jours – Essai simplifié d'inhibition de la croissance de la population (Indice de classement : T90-378).

NF T90-390 (avril 2002). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice oligochètes de bioindication des sédiments (IOBS) (Indice de classement : T90-390).

XP T90-380 (juin 2003). Qualité de l'eau – Détermination de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna Strauss par les produits chimiques en présence de carbone organique sous forme d'acides humiques – Essai de toxicité aiguë (Indice de classement : T90-380).

NF EN 13946 (juillet 2003). Qualité de l'eau – Guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières. Juillet 2003 (Indice de classement : T90-357-1).

NF EN 14011 (juillet 2003). Qualité de l'eau – Échantillonnage des poissons à l'électricité (Indice de classement : T90-358).

FD ISO 12890 (août 2003). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité vis-à-vis des embryons et larves de poissons d'eau douce – Méthode semi-statique (Indice de classement : T90-331).

FD ISO 14669 (août 2003). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité létale aiguë vis-à-vis de copépodes marins (*Copepoda, Crustacea*) (Indice de classement : T90-332).

XP T90-338-1 (septembre 2003). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité des sédiments d'eaux douces vis-à-vis de *Hyalella azteca* – Partie 1 : sédiments naturels (Indice de classement : T90-338-1).

NF T90-327 (mars 2004). Qualité du sol – Évaluation des effets génotoxiques sur végétaux supérieurs – Évaluation de la fréquence d'apparition de micronoyaux dans les racines secondaires de *Vicia* faba. (Indice de classement : T90-327).

XP T90-339-1 (avril 2004). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce vis-à-vis de *Chironomous riparius* – Partie 1 : sédiments naturels (Indice de classement : T90-339-1).

NF EN 14184 (avril 2004). Qualité de l'eau – Guide pour l'étude des macrophytes aquatiques dans les cours d'eau (Indice de classement : T90-356).

NF EN 14407 (octobre 2004). Qualité de l'eau – Guide pour l'identification et le dénombrement des échantillons de diatomées benthiques de rivières, et leur interprétation (Indice de classement : T90-357-2).

NF T90-391 (mars 2005). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice oligochètes de bioindication lacustre (IOBL).

NF EN ISO 8692 (mai 2005). Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires (Indice de classement : T90-304).

NF EN ISO 10253 (juin 2006). Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum* (Indice de classement : T90-311).

NF EN 15110 (juillet 2006). Qualité de l'eau – Guide pour l'échantillonnage du zooplancton dans les eaux stagnantes (Indice de classement : T90-368).

NF EN 14996 (août 2006). Qualité de l'eau – Guide d'assurance qualité pour des évaluations biologiques et écologiques dans l'environnement aquatique (Indice de classement : T90-369).

NF EN 15196 (octobre 2006). Qualité de l'eau – Guide d'échantillonnage et de traitement d'exuvies nymphales de Chironomidae (Ordre des Diptères) pour l'évaluation écologique (Indice de classement : T90-372).

NF ISO 21427-1 (novembre 2006). Qualité de l'eau – Évaluation de la génotoxicité par le mesurage de l'induction de micronoyaux – Partie 1 : évaluation de la génotoxicité à l'aide de larves d'amphibiens (Indice de classement : T90-335-1).

GA T90-374 (décembre 2006). Qualité de l'eau – Guide d'application de la norme NF T90-350 : 2004, IBGN (Détermination de l'indice biologique global normalisé) (Indice de classement : T90-374).

NF EN 15204 (décembre 2006). Qualité de l'eau – Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl) (Indice de classement : T90-379).

NF EN ISO 20079 (décembre 2006). Qualité de l'eau – Détermination de l'effet toxique des constituants de l'eau et des eaux résiduaires vis-à-vis des lentilles d'eau (*Lemna minor*) – Essai d'inhibition de la croissance des lentilles d'eau (Indice de classement : T90-308).

NF EN ISO 16712 (novembre 2007). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë des sédiments marins et estuariens vis-à-vis des amphipodes (Indice de classement : T90-373).

NF T90-354 (décembre 2007). Qualité de l'eau – Détermination de l'Indice Biologique Diatomées (IBD) (Indice de classement : T90-354).

NF EN 15460 (février 2008). Qualité de l'eau – Guide pour l'étude des macrophytes dans les lac (Indice de classement : T90-386).

XP T90-383 (mai 2008). Qualité de l'eau – Échantillonnage des poissons à l'électricité dans le cadre des réseaux de suivi des peuplements de poissons en lien avec la qualité des cours d'eau (Indice de classement : T90-383).

PR NF EN ISO 21427-2 (décembre 2008). Qualité de l'eau – Évaluation de la génotoxicité par le mesurage de l'induction de micronoyaux – Partie 2 : méthode de la population mélangée à l'aide de la lignée de cellules V79 (Indice de classement : T90-335-2PR).

PR NF ISO 10710 (février 2009). Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de croissance sur des macro algues *Ceramium tenuicorne* en eau marine et saumâtre (Indice de classement : T90-392PR).

ASTM D3978-80. Standard practice for algal growth potential with *Selestranum capriconornutum*. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1987.

ASTM E1295-89. Standard guide for conducting three-brood, renewal tests with *Ceriodaphnia dubia*. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1989.

ASTM E1439-91. Standard guide for conducting the frog embry teratogenesis assay *Xenopus* (Fetax). *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1991.

ASTM E1440-91. Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1991.

ASTM E1241-92. Standard guide for conducting early life-stage toxicity tests with fishes. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1992.

ASTM E 1383-93. Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. *American Society for Testing and Materials*, Annual book of ASTM Standards, 1993, Vol. 11.05.

ASTM E1711-95. Standard guide for measurement of behaviour during fish toxicity tests. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1995.

ASTM E1840-96. Standard guide for conducting renewal phytotoxicity tests with freshwater emergent macrophytes. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1996.

ASTM E1192-97. Standard guide for conducting acute toxicity tests on aqueous effluents with fishes, macroinvertebrates and amphibiens. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1997.

ASTM E1218-97a. Standard guide for conducting static 96-h toxicity test with microalgae. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 1997.

ASTM E1463-92. Standard guide for conducting static and flow-through acute toxicity tests with mysids from the west coast of the United States. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 2004, Vol. 11.05.

ASTM E1562-00. Standard guide for conducting acute, chronic, and life-cycle aquatic toxicity tests with polychaetous annelids. *American Society for Testing and Materials* Annual book of ASTM Standards, 2004, Vol. 11.05

ASTM E729-96. Standard guide for conducting acute toxicity tests on test materials with fishes, macroinvertebrates and amphibians. *American Society for Testing and Materials*. Annual book of ASTM Standards, 2002, Vol. 11.05.

4.3 Inhibition de la luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri*

Pendant de nombreuses années, c'est la bactérie luminescente *Photobacterium phosphoreum* qui a constitué la souche de référence pour les essais de toxicité en France. Les travaux de normalisation conduits à l'échelle européenne et internationale ont provoqué son remplacement par *Vibrio fischeri*.

■ Principe

L'effet inhibiteur d'un échantillon sur des cultures bactériennes de *Vibrio fischeri* est déterminé par mesure de l'inhibition de leur luminescence.

Cette inhibition de luminescence est mesurée après 5 à 30 minutes d'incubation.

Les essais peuvent être réalisés :

– sur des bactéries fraîchement préparées,

– sur des bactéries déshydratées,

– sur des bactéries lyophilisées.

Il a cependant été montré que ces différentes techniques sont susceptibles de donner parfois des résultats différents.

■ Bactéries d'essai

Souche de bactéries luminescentes appartenant à l'espèce *Vibrio fischeri* NRRL B-11177.

Selon leur état initial (fraîches, déshydratées ou lyophilisées) elles subissent une préparation spécifique pour les essais.

□ Réactifs

– Eau de dilution :

c'est une solution de chlorure de sodium à 20 g/L

– Solution d'hydroxyde de sodium à environ 1 mol/L.

– Substances de référence :

- sulfate de zinc ($ZnSO_4$, $7H_2O$).
- 3,5-dichlorophénol ($C_6H_4OCl_2$).
- dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$).

□ Matériel

– Réfrigérateur permettant de maintenir la suspension mère à 3 °C ± 3 °C ;

– thermostat ou enceinte thermostatée permettant de maintenir les échantillons pour essai à 15 °C ± 1 °C ;

– luminomètre avec cellule de mesure thermostatée (15 °C ± 1 °C) ;

– tubes à essais adaptés au luminomètre ;

– pH-mètre ;

– centrifugeuse réfrigérée ;

– incubateur agitateur ;

– spectromètre : trajet optique 1 cm ;

– conductimètre ;

– bain-marie (20 °C ± 2 °C).

■ Préparation des bactéries pour les essais

Bactéries fraîchement préparées

Avant usage, elles sont préparées en suivant différentes étapes. Les solutions suivantes sont nécessaires :

Milieu de cultures liquide pour précultures et cultures principales

Chlorure de sodium (NaCl)	30	g
Di-hydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4, H_2O)	6,10	g
Hydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4, $3H_2O$)	2,75	g
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$, $7H_2O$)	0,204	g
Hydrogénophosphate de diammonium $(NH_4)_2HPO_4$	0,500	g

Glycérol		3	mL
Peptone de caséine		5,00	g
Extrait de levure		0,50	g
Eau déionisée	q.s.p.	environ 980	mL
Dissoudre et ajuster le pH à 7,0 ± 0,2			
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	mL

Transférer des fractions de 50 mL dans des fioles erlenmeyer et stériliser à l'autoclave.

Milieu gélosé pour cultures mères

Au milieu de culture précédent on ajoute 12 g de gélose par litre et on dissout en chauffant modérément. Ce milieu gélosé est stérilisé à l'autoclave, puis transvasé dans des boîtes de Petri stériles.

Solution de réhydratation pour bactéries fraîchement préparées

D (+)glucose monohydraté ($C_6H_{12}O_6$, H_2O)		8,0	g
Chlorure de sodium (NaCl)		20,0	g
Chlorure de magnésium ($MgCl_2$, $6H_2O$)		2,035	g
Chlorure de potassium (KCl)		0,30	g
N-(hydroxyéthyl)pipérazine-N-(2-acide éthanesulfonique) (HEPES)		11,9	g
Dissoudre dans de l'eau déionisée. Agiter environ 30 minutes.			
Eau déionisée	q.s.p.	environ 980	mL
Ajuster le pH à 7,0 ± 0,2			
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	mL

Cette solution peut être conservée par fractions au congélateur.

Milieu protecteur

D (+)glucose monohydraté ($C_6H_{12}O_6$, H_2O)		66	g
Chlorure de sodium (NaCl)		4	g
L-Histidine		2	g
Albumine de sérum bovin (BSA)		0,5	g
Dissoudre dans de l'eau déionisée à une température d'environ 37 °C			
Eau déionisée	q.s.p.	environ 90	mL
Ajuster si nécessaire le pH à 7,0 ± 0,2 à température ambiante			
Eau déionisée	q.s.p.	100	mL

Préparation des cultures mères :

Les souches de bactéries sont transférées dans des boîtes de Petri contenant le milieu gélosé pour cultures mères. Incuber 2 à 5 jours à 20 °C.

Marquer les colonies luminescentes isolées en effectuant des observations à l'obscurité, puis les transférer dans de nouvelles boîtes de Petri.

Préparation des précultures :

Dans une fiole stérile contenant 50 mL de milieu de culture liquide pour précultures, ajouter une colonie luminescente de la culture mère âgée de 2 à 5 jours.

Diluer au 1/10e une fraction de ce milieu en utilisant comme solution diluante une solution de chlorure de sodium à 20 g/L. Déterminer la turbidité de cette préculture diluée, en unités néphélométriques de formazine (FTU ou *Formazin Turbidity Unit*), par spectromètrie à 578 nm.

Préparation de la culture principale :

Dans une fiole stérile contenant 50 mL de milieu de culture liquide pour précultures, ajouter un volume de la préculture permettant d'obtenir une turbidité initiale de 10 FTU.

Agiter pendant 20 heures à 180 tr/min et à 20 °C.

Déterminer la turbidité d'une dilution au 1/10e (dans une solution de chlorure de sodium à 20 g/L).

La culture principale non diluée présente en principe une turbidité comprise entre 700 et 1 800 FTU.

Préparation de la suspension mère :

Refroidir dans la glace la solution de chlorure de sodium à 20 g/L et le milieu protecteur.

Centrifuger 50 mL de la suspension bactérienne de culture principale à 4 °C (dans une centrifugeuse préalablement réfrigérée) pendant 20 minutes à environ 6 000 g. Décanter le liquide surnageant et remettre le culot en suspension dans 5 à 10 mL de solution de chlorure de sodium à 20 g/L (refroidie dans la glace).

Répéter la centrifugation. Décanter le liquide surnageant et remettre le culot en suspension dans 0,5 mL de solution de chlorure de sodium à 20 g/L (refroidie dans la glace).

Transvaser la suspension bactrienne dans un bécher de 100 mL préalablement refroidi. Tout en maintenant dans la glace, ajouter lentement environ 4 mL de milieu protecteur.

Déterminer par spectrométrie la turbidité d'une dilution au 1/100e (dans une solution de chlorure de sodium à 20 g/L).

Tout en agitant le milieu, ajouter plus rapidement du milieu protecteur préalablement refroidi pour obtenir une turbidité voisine de 2 500 FTU (± 500 FTU).

Poursuivre l'agitation pendant environ 15 minutes.

Répartir des portions aliquotes de 100 μL dans des tubes à essais appropriés.

Ces suspensions mères peuvent se conserver à -20 °C pendant environ 1 mois.

Pour préparer la suspension d'essai, on ajoute 0,5 mL de la solution pour bactéries fraîchement préparées pour 100 μL de suspension bactérienne. Homogénéiser en agitant doucement. Attendre environ 15 minutes.

Bactéries déshydratées

Les bactéries déshydratées sont conservées au congélateur (-20 °C). Elles sont décongelées dans un bain-marie à 20 °C.

La solution de réhydratation est préparée selon le mode opératoire décrit ci-dessus pour les bactéries fraîchement préparées.

Réhydrater les bactéries décongelées en ajoutant 0,5 mL de la solution de réhydratation pour 100 μL de suspension bactérienne. Homogénéiser en agitant doucement. Attendre environ 15 minutes. Dès leur réhydratation, les bactéries commencent à émettre de la lumière et peuvent être utilisées pour les essais.

Bactéries lyophilisées

Les bactéries lyophilisées sont conservées au congélateur (-20 °C). Les retirer du congélateur immédiatement avant reconstitution.

Dans le flacon contenant les bactéries lyophilisées, ajouter en une seule fois environ 1 mL d'eau déionisée préalablement refroidie à environ 3 °C. On obtient une suspension mère qui est ensuite diluée pour obtenir la suspension d'essai.

On utilise pour ce faire on utilise la solution de préparation des bactéries suivante :

Chlorure de sodium (NaCl)		20,0	g
Chlorure de magnésium ($MgCl_2$, $6H_2O$)		2,035	g
Chlorure de potassium (KCl)		0,30	g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	mL

Cette solution peut être congelée pour conservation. Elle est portée à 3 °C pour utilisation.

Dans un tube à essai, on ajoute un volume de la suspension mère de bactéries à 50 volumes de la solution de préparation précédente (maintenue à 3 °C). Mélanger soigneusement.

■ Échantillonnage et préparation des échantillons

Remplir complètement les flacons d'échantillonnage et les fermer hermétiquement.

Réaliser l'analyse dans un délai de 48 heures en les stockant entre 2 et 5 °C. Conservé à -20 °C, l'échantillon pourra être analysé dans un délai de 2 semaines.

Si le *p*H n'est pas compris entre 6, 0 et 8,5, ajuster le pH à une valeur voisine de 7,0 (à l'aide de solutions adaptées d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium).

Ajouter 20 g de chlorure de sodium par litre d'échantillon, sauf s'il s'agit d'une eau saumâtre. Dans ce ca, on déterminera la salinité et on ajustera l'ajout de NaCl pour ajuster l'osmolarité des solutions.

Les échantillons présentant une forte turbidité seront décantés, filtrés ou centrifugés (10 minutes à 5 000 g).

Mode opératoire

Préparations de dilutions de l'échantillon

Préparer plusieurs dilutions de l'échantillon, en utilisant par exemple les proportions du tableau ci-dessous. Il est habituel d'utiliser la notion de facteur de dilution D (égal à l'inverse de la dilution).

Dilution réalisée	Facteur de dilution D	Echantillon d'eau µL	Eau de dilution (NaCl 20 g/L) µL
1/2	2	500	q.s.p. 500 µL
1/3	3	333,3	
1/4	4	250	
1/6	6	166,7	
1/8	8	125	
1/12	12	83,3	
1/16	16	62,5	
1/24	24	41,7	
1/32	32	31,3	
Lots témoin	> 2	0	

Les tubes à essai contenant ces dilutions sont maintenus à une température de 15 °C dans un incubateur.

Préparation des suspensions d'essai

Préparer un tube à essai (en utilisant des tubes à essais adaptés au luminomètre) pour chacune des dilutions ci-dessus.

Ensemencer chaque tube en introduisant 500 µL de suspension d'essai dans chaque tube.

Maintenir ces tubes à 15 °C.

Ensemencer chaque tube en introduisant 500 µL de suspension d'essai dans chaque tube.

Attendre 10 à 15 minutes pour que l'émission lumineuse se stabilise.

Lire l'absorbance au luminomètre dans chaque tube. Le luminomètre sera préalablement réglé à un niveau approprié, proche du maximum.

Réalisation de l'essai

Immédiatement pars la mesure sur la suspension d'essai, ajouter 500 µL de l'échantillon dilué. Mélanger manuellement et démarrer le chronomètre.

Après le temps requis (5, 15 ou 30 minutes), mesurer l'intensité de luminescence au luminomètre.

La durée de contact doit être identique pour tous les échantillons.

Présentations des résultats

Un **facteur de correction** f_t destiné à corriger les valeurs initiales mesurées pour tous les échantillons est calculé :

$$f_t = \frac{I_t}{I_0}$$

F_t facteur de correction pour un temps de contact donné (5, 15 ou 30 minutes)

I_t intensité de luminescence de l'échantillon témoin après 5, 15 ou 30 minutes

I_0 intensité de luminescence de la suspension d'essai témoin, avant l'ajout de la solution de dilution

Calculer la moyenne des valeurs de f_t des échantillons témoin.

La **valeur corrigée** I_{ct} en intensité de luminescence relative est ensuite calculée pour chacun des tubes de mesure d'échantillons :

$$I_{ct} = I_0 \cdot \bar{f}_t$$

$\bar{f}_t$ moyenne des valeurs de f_t

I_{ct} valeur corrigée de I0 pour les tubes échantillons avant l'ajout de l'échantillon

L'effet inhibiteur H_t d'un échantillon pour essai se calcule alors comme suit :

$$H_t = \frac{I_{ct} - I_{Tt}}{I_{ct}} \times 100$$

H_t effet inhibiteur (en %) d'un échantillon pour essai après un temps de contact de 5, 15 ou 30 minutes.

I_{Tt} intensité de luminescence de l'échantillon pour essai après un temps de contact de 5, 15 ou 30 minutes.

La moyenne de l'effet inhibiteur peut ensuite être calculée pour chaque niveau de dilution.

La plus faible dilution pour laquelle l'effet inhibiteur est inférieur à 20 % est appelée DMSE ou **Dilution Minimale sans effet**.

Pour évaluer la relation concentration/effet, on calculera pour chaque dilution de l'échantillon une valeur gamma :

$$\Gamma_t = \frac{\overline{H_t}}{100 - \overline{H_t}}$$

$\overline{H_t}$ Moyenne des valeurs de l'effet inhibiteur H_t (en %) d'un échantillon pour essai.

Γ_t Valeur gamma de l'échantillon pour essai après un temps de contact de 5, 15 ou 30 minutes.

Une régression linéaire permet ensuite de calculer la relation dose/effet pour un temps d'exposition donné :

$$\lg C_t = b \lg \Gamma_t + \lg a$$

C_t est la proportion (en %) d'échantillon d'eau présente dans l'échantillon pour essai.

Γ_t est le facteur gamma calculé précédemment.

b est la valeur de la pente de la droite.

lg a est l'ordonnée à l'origine de la droite obtenue.

Une estimation graphique des valeurs de CE peut s'obtenir sur un graphique log/log.

À l'aide d'une méthode des moindres carrés, calculer les valeurs de CE_{20} et CE_{50} et les limites de confiance correspondantes.

Méthodes de référence

NF EN ISO 11348-1 (mars 2008). Qualité de l'eau – Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes) – Partie 1 : méthode utilisant des bactéries fraîchement préparées (Indice de classement : T90-320-1).

NF EN ISO 11348-2 (mars 2008). Qualité de l'eau – Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes) – Partie 2 : méthode utilisant des bactéries déshydratées. (Indice de classement : T90-320-2).

NF EN ISO 11348-3 (mars 2008). Qualité de l'eau – Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes) – Partie 3 : méthode utilisant des bactéries lyophilisées. (Indice de classement : T90-320-3).

4.4 Inhibition de croissance d'une population d'algue verte chlorococcale

■ Principe

On détermine la concentration qui, dans des conditions standard, inhibe 50 % de l'accroissement d'une population d'une Chlorococcale.

L'essai doit être limité à la phase exponentielle d'accroissement de la population : il dure en général 3 à 4 jours. La concentration ainsi déterminée est dénommée concentration inhibitrice CI 50 - 72 h ou CI 50 - 96 h.

Matériel spécial

Matériel biologique

Algues vertes planctoniques appartenant à l'ordre des chlorococcales.

Parmi les diverses espèces proposées, retenir *Selenatrum capricornutum* (ATCC 22662) (*).

Pendant son usage régulier, cultiver la souche et la repiquer dans les conditions décrites dans le mode opératoire. Lors d'essais plus espacés, la conserver 3 mois à l'obscurité et à 4 °C sur gélose inclinée préparée avec les mêmes solutions. Prendre soin d'éviter toute contamination bactérienne ou algale par d'autres espèces. Veiller notamment à la stérilisation des solutions et des récipients. Vérifier régulièrement, par examen direct, la conformité morphologique des cellules algales. S'assurer, par la méthode décrite plus bas, que la *CI* 50-5 jours du dichromate de potassium demeure voisine de 0,85 mg/L, valeur déterminée par essais interlaboratoires.

Matériel de laboratoire

– Autoclave.

– Appareil de filtration sur membrane de 0,2 µm.

– Flacon de verre de 300 mL à large ouverture.

– Enceinte ventilée, éclairée et thermostatée permettant de maintenir une certaine agitation des cultures, leur éclairement homogène et une température stable.

Maintenir au niveau de chaque culture, une température de 23 ± 2 °C et un éclairement continu de 6000 à 10000 lux (lumière blanche d'intensité moyenne comprise entre 60 µE/m^2/s et 120 µE/m^2/s dans le domaine 400-700 nm).

– Compte-cellules de Malassez.

Éventuellement tout autre appareil permettant d'évaluer la densité en cellules ou colonies algales : opacimètre (par exemple spectrophotomètre réglé à une autre longueur d'onde que celles de la chlorophylle), spectrophotomètre réglé à 665 nm (longueur d'onde de la chlorophylle), fluorimètre, compteur de particules (type Coulter). L'évaluation par la teneur en chlorophylle (spectrophotométrie à 665 nm, fluorimétrie) n'est valable que si le pigment n'est pas altéré par le toxique comme il l'est dans le cas d'un jaunissement de la culture. Des substances colorées ou en suspension dans le milieu de l'essai interdisent l'utilisation de l'opacimètre, du spectrophotomètre ou du compteur de particules pour le dénombrement des densités en cellules.

– *p*H-mètre.

– Diagrammes gausso-logarithmiques (également nommés log-probit).

Réactifs

– Solution de dichromate de potassium à 1 g/L.

– Milieu de culture et d'essai avec sels nutritifs et oligo-éléments réalisé de la façon suivante à partir de quatre solutions mères :

(*) *Selenatrum capricornutum* est maintenant dénommée *Raphidocelis subcapitata* (ATCC 22662 ou CCAP 27814).

Sels nutritifs	Concentration de la solution mère
Solution mère 1 : substances nutritives	
NH_4Cl	1,5 g/L
$MgCl_2$, 6 H_2O	1,2 g/L
$CaCl_2$, 2 H_2O	1,8 g/L
$MgSO_4$, 7 H_2O	1,5 g/L
KH_2PO_4	0,16 g/L
Solution mère 2 : Fe – EDTA	
$FeCl_3$, 6 H_2O	80 mg/L
Na_2EDTA, 2 H_2O	100 mg/L
Solution mère 3 : oligo-éléments	
H_3BO_3	185 mg/L
$MnCl_2$, 4 H_2O	415 mg/L
$ZnCl_2$	3 mg/L
$CoCl_2$, 6 H_2O	1,5 mg/L
$CuCl_2$, 2 H_2O	0,01 mg/L
Na_2MoO_4 , 2 H_2O	7 mg/L
Solution mère 4 : $NaHCO_3$	
$NaHCO_3$	50 g/L

Utiliser de l'eau déionisée pour les solutions. Stériliser les solutions mères par filtration sur membrane (pores de 0,2 µm). Conserver les solutions à l'obscurité et à environ + 4 °C.

Le concentré nutritif est obtenu en ajoutant à 100 mL de solution mère 1 :

– 10 mL de solution mère 2,

– 10 mL de solution mère 3,

– 10 mL de solution mère 4.

Compléter à 1 000 mL avec de l'eau déionisée.

Préparer le concentré nutritif juste avant chaque essai. Avant l'utilisation, ce concentré doit atteindre l'état d'équilibre en restant à l'air pendant une nuit ou par un barbotage d'air filtré de 30 min. Après obtention de l'état d'équilibre, ajuster le *p*H à 8,3 ± 0,2, si nécessaire en utilisant des solutions diluées d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium (1 mol/L).

■ Préparation de l'inoculum d'algues

PRÉCULTURE EN PHASE EXPONENTIELLE DE CROISSANCE

Concentré nutritif	1 volume
Eau déionisée	8 volumes
Culture algale mère (+ eau déionisée)	q.s.p. 10^4 cellules/mL dans 10 volumes

INCUBATION DE LA PRÉCULTURE D'ALGUES

Maintenir l'inoculum d'algues en incubation pendant 3 jours sur une préculture en phase exponentielle de croissance.

Mesurer la concentration cellulaire immédiatement avant l'essai afin de déterminer le volume nécessaire pour l'essai.

Préparation des solutions d'essai

Toutes les solutions d'essai doivent être préparées en mélangeant les solutions à étudier, le concentré nutritif et l'inoculum d'algues dans le flacon d'essai suivant les proportions suivantes :

Concentré nutritif	1 volume
Solution à étudier	q.s.p. dilution choisie dans le flacon d'essai
Inoculum	q.s.p. 10^4 cellules/mL dans le flacon d'essai
Eau déionisée	q.s.p. 10 volumes

Si la densité algale est insuffisante, une concentration pourra être réalisée par centrifugation (en prenant soin de ne pas lyser les cellules).

Préparer 3 flacons d'essai pour chaque concentration de la substance à étudier.

Préparer six flacons témoin en remplaçant la solution à étudier par de l'eau déionisée.

Mesurer le pH pour chacune des concentrations et pour le témoin.

Mode opératoire

L'essai comporte la culture de l'algue dans le milieu témoin et dans les diverses dilutions dans ce milieu témoin de l'eau ou de l'effluent. Vérifier la CI 50-72 h du dichromate de potassium, comme prescrit, par dilution de la solution mère dans l'eau témoin.

Il est recommandé que chaque culture ait un volume de 50 mL et soit contenue dans un flacon de 300 mL.

Calculer la densité en cellules dans les flacons, au départ de la culture. Étalonner du même coup l'appareil qui sera utilisé pour lire cette densité en fin d'expérience, s'il ne s'agit pas d'un compte-cellules.

Pour la mesure de l'inhibition de croissance par rapport aux témoins, opérer en deux fois :

– un essai préliminaire, avec un certain nombre de dilutions décimales (1, 1/10, 1/100, 1/1 000...) ou plus resserrées (1/3,2, 1/10, 1/32, 1/100...) ;

– un essai définitif dans la gamme où les pourcentages d'inhibition sont compris entre 0 et 100 % et débordent légèrement ces limites.

Exemple de dilutions en progression géométrique : 10 dilutions de 1 à 0,1, base 1,291.

1 - 0,77 - 0,60 - 0,46 - 0,36 - 0,28 - 0,22 - 0,17 - 0,13 - 0,10.

Réaliser en 4 exemplaires les témoins et chacune des dilutions définitives. Fermer les récipients par un tampon de coton, ou de façon plus hermétique

dans le seul cas où les substances étudiées sont volatiles. Disposer alors les cultures pendant 72 à 96 heures dans l'enceinte où règnent les conditions d'homogénéisation, de température et d'éclairement indiquées.

Après 72 heures, évaluer de nouveau la densité en cellules par toute méthode appropriée : comptage au compte-cellules (chaque cellule d'une colonie éventuelle étant comptée pour un individu), au compteur de particules, opacimètre, fluorimètre, spectrophotomètre à 665 nm...

En cas d'incertitude, procéder à plusieurs mesures sur chaque culture. Des évaluations intermédiaires peuvent être réalisées à 1, 2, 3... jours si la connaissance de la courbe de croissance des cultures est souhaitée. Il est important que le *p*H des solutions témoins n'ait pas varié de plus de 1,5 unité pendant la durée de l'essai.

■ Expression des résultats

Calculer les valeurs moyennes des densités en cellules pour les témoins et pour chaque dilution.

La CI 50 peut valablement être évaluée si les deux conditions suivantes sont remplies :

– au bout de 72 heures, la densité moyenne en cellules des témoins est au moins 16 fois supérieure à la densité initiale,

– la CI 50-72 heures du dichromate de potassium est comprise entre 0,6 et 1,03 mg/L.

Les concentrations d'inhibition s'expriment en mL de solution ou d'effluent par litre de milieu témoin ou en pourcentage de dilution.

À partir des densités moyennes en cellules au 3e jour, calculer les pourcentages d'inhibition aux diverses dilutions et retenir les couples de valeurs comportant un pourcentage d'inhibition compris entre 10 et 90 %. Porter ces résultats sur un diagramme gausso-logarithmique, les pourcentages en ordonnée (échelle probit) et les concentrations en abscisse (échelle logarithmique). Tracer la droite à vue et en déduire la CI 50-72 h. La connaissance des concentrations provoquant 0 et 100 % d'inhibition est également nécessaire dans ce cas.

Lorsque par suite de la forme de la courbe, il ne peut être déterminé de CI 50-72 h, se contenter d'énoncer les limites 0 et 100 % d'inhibition.

Outre les éléments d'identification indispensables, le nom de l'algue utilisée pour les essais et une référence éventuelle à une norme, le procès-verbal comportera :

– le mode de prélèvement de l'eau ou de l'effluent, leur traitement préliminaire (filtration, stérilisation) et leur mode de conservation éventuel, ainsi que la méthode de préparation des dilutions d'essai ;

– la provenance, les conditions de maintien en culture de l'algue, la CI 50-72 h du dichromate de potassium ;

– le facteur d'accroissement de la densité des témoins en 3 jours ;

– les conditions de l'essai (composition du milieu, volume, température, éclairement, nombre de répétitions, etc.) ;

– la méthode utilisée pour dénombrer les cellules ;

– la CI 50-72 h obtenue, éventuellement son intervalle de confiance, le mode de détermination, le tracé concentration-inhibition sur diagramme gausso-logarithmique ;

– les concentrations minimale ayant provoqué 100 % d'inhibition et maximale n'ayant provoqué aucune inhibition ;

– tout autre détail sur les eaux expérimentées, la procédure, la réaction des algues en fin de culture, notamment d'éventuelles déformations, groupements en cénobes ou jaunissement des cellules.

Méthodes de référence

NF EN ISO 8692 (mai 2005). Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires (Indice de classement : T90-304).

4.5 Inhibition de la mobilité du crustacé cladocère *Daphnia magna*

■ Principe

On détermine la concentration qui, en 24 ou 48 heures, inhibe la locomotion de 50 % des individus d'une population de jeunes daphnies. Ces concentrations efficaces sont dénommées respectivement CE 50-24 h et CE 50-48 h.

□ Matériel spécial

Matériel biologique

Le matériel biologique est le crustacé cladocère *Daphnia magna*, reproduit par parthénogénèse à partir d'une souche déterminée disponible dans divers laboratoires.

L'élevage de *Daphnia magna* est relativement aisé dans de l'eau de source additionnée d'algues vertes unicellulaires par exemple.

Maintenir la population en croissance active par prélèvement régulier d'une partie des effectifs, car la sensibilité des sujets dépend de leur âge donc de leur taille.

Les animaux utilisés doivent être âgés de moins de 24 heures. Transférer les femelles porteuses dans des récipients d'eau de dilution et récupérer les nouveaux nés libérés. La manipulation des daphnies peut s'effectuer à l'aide d'une pipette Pasteur.

Vérifier périodiquement la conformité physiologique de la souche par le dichromate de potassium, choisi comme toxique témoin. La CE 50-24 h du dichromate doit être comprise entre 0,9 et 1,5 mg/L, valeur établie par essais interlaboratoires.

Matériel de laboratoire

– Matériel de verrerie courant (tubes à essais 18 × 180 mm ou 20 × 200 mm ; fioles coniques, pipettes, etc.) soigneusement lavé et rincé.
– Oxymètre et *p* H-mètre de laboratoire.
– Diagrammes gausso-logarithmiques (également dénommés log-probit).
– Enceinte obscure à 20 ± 2 °C.

□ Réactifs

– Solution saline pour eau de dilution :

Chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2$, $2H_2O$)	2,94 g
Hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$)	0,65 g

Sulfate de magnésium ($MgSO_4$)		1,23 g
Chlorure de potassium (KCl)		0,06 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

– Eau de dilution à pH 7,8 et saturée en oxygène ;

– Diluer la solution saline au 1/10e dans de l'eau déionisée :

Solution saline		100 mL
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Aérer cette solution jusqu'à ce que sa concentration soit voisine de la concentration de saturation et ajuster si nécessaire le pH (avec hydroxyde de sodium ou acide chlorhydrique) pur que le pH soit de 7,8 ± 0,2 ;

– dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) de qualité analytique.

Mode opératoire

Préparer des dilutions successives des solutions constituées par l'eau ou l'effluent à tester, de façon à obtenir, en fin d'essai, au moins 3 ou 4 concentrations pour lesquelles le pourcentage d'immobilisation sera compris entre 10 et 90 %. Procéder en deux étapes successives :

– un essai préliminaire, avec un certain nombre de dilutions décimales (1, 1/10, 1/100, 1/1 000, etc.) ou moins espacées 1/3,2 - 1/10 - 1/32 - 1/100 -1/320, etc.),

– un essai définitif en choisissant dans l'essai préliminaire la gamme où les pourcentages d'immobilisation sont compris entre 0 et 100 % et débordent légèrement ces deux limites.

Chaque essai comprend les diverses dilutions du milieu à étudier et les témoins sont constitués par l'eau de dilution seule. Répartir chacune de ces solutions dans 4 tubes à essais qui recevront alors 5 daphnies chacun. Les daphnies sont transférées l'une après l'autre dans les tubes au moyen d'une pipette Pasteur.

Couvrir les récipients et les maintenir à l'obscurité et à 20 ± 2 °C pendant 24 ou 48 heures. Après 24 heures et éventuellement 48 heures, dénombrer les daphnies encore mobiles, plus faciles à compter que les daphnies immobilisées. Seuls sont considérés comme mobiles les individus qui se déplacent effectivement à la suite d'une légère agitation du récipient – les mouvements d'antennes ne constituent pas un critère suffisant. Mesurer le *p* H et la teneur en oxygène dissous dans le ou les récipients contenant la plus faible concentration à avoir entraîné 100 % d'immobilisation.

Expression des résultats

La CE 50 peut être valablement évaluée si les trois conditions suivantes sont remplies :

– la teneur en oxygène dissous, mesurée en fin d'essai comme indiqué, est supérieure ou égale à 2 mg/L,

– le pourcentage d'immobilisation dans les témoins ne dépasse pas 10 %,

– la CE 50 - 24 h du dichromate de potassium est comprise entre 0,9 et 1,5 mg/L.

Si ces conditions ne sont pas remplies, soit l'essai doit être refait, soit la méthode n'est pas applicable au toxique en cause.

Les concentrations efficaces d'immobilisation s'expriment en mL d'eau ou d'effluent à tester par litre d'eau de dilution ou en pourcentage de dilution.

Pour évaluer la CE 50, calculer le pourcentage d'immobilisation à chaque concentration et retenir les couples de valeurs pour lesquels le pourcentage est compris entre 10 et 90 %. Porter ces résultats sur un diagramme gausso-logarithmique, les pourcentages en ordonnée (échelle probit) et les concentrations en abscisse (échelle logarithmique).

Tracer la droite à vue et en déduire la CE 50.

Lorsque la forme de la courbe ne permet pas de déterminer le CE 50, on se contente d'énoncer les limites d'immobilisation de 0 et 100 % des individus.

L'inverse de la CE 50-24 h est parfois exprimée en unité équitox.

Outre les éléments d'identification indispensables et la référence éventuelle à une norme, le procès-verbal comportera :

– le mode de prélèvement de l'eau ou de l'effluent à tester et éventuellement leur traitement préliminaire (décantation…) et leur mode de conservation ;

– la provenance, les conditions d'élevage, la taille et l'âge des daphnies, ainsi que leur CE 50-24 h de dichromate de potassium ;

– la mortalité des témoins ;

– les conditions de l'essai (récipients, volume, eau de dilution, *p*H, oxygène dissous, etc.) ;

– la CE 50-24 h obtenue, éventuellement la CE 50-48 h et leur intervalle de confiance, leur mode de détermination, le tracé concentration-immobilisation sur diagramme gausso-logarithmique ;

– les concentrations minimales ayant provoqué 100 % d'immobilisation et maximale n'ayant provoqué aucune immobilisation ;

– ainsi que tout autre détail utile sur les toxiques expérimentés, la procédure ou le comportement des daphnies.

Méthode de référence

NF EN ISO 6341 (mai 1996). Qualité de l'eau – Détermination de l'inhibition de la mortalité de *Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)* – Essai de toxicité aiguë (Indice de classement : T 90-301).

4.6 Détermination de la toxicité létale vis-à-vis d'un poisson d'eau douce (*Brachydanio rerio*)

■ Principe

On détermine la concentration qui, dans des conditions standard, tue 50 % des individus d'une population de *Brachydanio rerio* après des durées d'exposition de 24 h, 48 h, 72 h ou 96 h. Cette concentration est dénommée concentration létale CL 50.

L'essai peut être :

– statique : le milieu n'est pas renouvelé pendant l'essai ;

– semi-statique : le milieu est entièrement renouvelé à un ou plusieurs moments de l'essai ;

– dynamique : le milieu est continuellement renouvelé par un apport régulier de milieu frais.

Selon les buts recherchés et les moyens disponibles, choisir l'une ou l'autre de ces techniques : la première est simple, rapide mais plus artificielle et demande des milieux stables. La troisième permet des essais valables de plus longue durée et l'étude de milieux moins stables, mais au prix d'un appareillage plus complexe et d'un labeur plus important. La deuxième représente un compromis entre les deux autres.

☐ Matériel spécial

Matériel biologique

– Le matériel biologique est constitué par le poisson d'eau douce Cyprinidé *Brachydanio rerio*, également dit poisson-zèbre, provenant d'élevages ou du commerce. Les sujets doivent avoir 3,0 ± 0,5 cm de longueur et être exempts de maladies ou de malformations. L'élevage est relativement coûteux et donne un certain pourcentage de sujets malformés. Proscrire le réemploi de sujets qui ont été une première fois mis au contact de toxiques sous peine de fausser les résultats des essais. Avant l'emploi, maintenir les poisssons au moins 2 semaines dans les conditions de l'essai (eau, température) et les laisser jeûner pendant les dernières 24 heures. La CL50-24 h du dichromate de potassium, choisi comme toxique témoin, doit demeurer voisine de 300 mg/L, valeur déterminée par essais interlaboratoires.

Matériel de laboratoire

– Cuves parallélépipédiques de 10 litres, en verre, soigneusement lavées et rincées, destinées à recevoir environ 5 litres d'eau.

– Pour l'essai dynamique, dispositif permettant de mélanger dans les proportions voulues, l'eau ou l'effluent à étudier et l'eau de dilution, ceci de façon continue (par exemple avec des pompes péristaltiques). Ce dispositif est relié aux ballons destinés à contenir les poissons : ballons de 2 litres environ, hermétiquement clos, munis d'un orifice à rodage suffisamment large pour l'introduction et le retrait des poissons, et de 2 tubulures, l'une pour l'arrivée, l'autre pour la sortie de la solution. Le temps de renouvellement de la solution dans le ballon ne doit pas dépasser 1 h. Le débit doit donc être d'environ 2 L/h. Les concentrations du milieu étudié ne doivent pas, à la sortie du système, s'écarter de plus de 10 % de la valeur souhaitée.

– Dispositif thermostatique pour maintenir, dans les récipients, la température à 23 ± 1 °C.

– petite épuisette à mailles fines en matériau doux et chimiquement inerte pour le transfert des poissons.

– *p*H-mètre, oxymètre de laboratoire.

– Diagrammes gausso-logarithmiques (également dénommés log-probit).

☐ Réactifs

– Solution saline pour eau de dilution :

Chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2$, $2H_2O$)		2,94 g
Hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$)		0,65 g
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$)		1,23 g
Chlorure de potassium (KCl)		0,06 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

– Eau de dilution à pH 7,8 et saturée en oxygène ;

– Diluer la solution saline au 1/10e dans de l'eau déionisée :

Solution saline		100 mL
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Aérer cette solution jusqu'à ce que sa concentration soit voisine de la concentration de saturation et ajuster si nécessaire le pH (avec hydroxyde de sodium ou acide chlorhydrique) pur que le pH soit de 7,8 ± 0,2 ;

– dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) de qualité analytique.

Préparation de solutions d'essai

Les solutions d'essai sont préparées en diluant les solutions à étudier avec l'eau de dilution. Vérifier que la teneur en sels n'est pas trop différente selon les essais. Si nécessaire, on pourra utiliser la solution saline pour préparer la solution d'essai dans le cas de faibles dilutions.

Mode opératoire

Préparer des dilutions successives en progression géométrique de l'eau ou d'effluent à étudier, de façon à obtenir, en fin d'essai, au moins 3 ou 4 concentrations pour lesquelles le pourcentage de mortalité est compris entre 10 et 90 %. Procéder en deux fois :

– essai préliminaire, avec un certain nombre de dilutions décimales (1, 1/10, 1/100, 1/1 000, etc.) ou moins espacées (1/3,2, 1/10, 1/32, 1/100, 1/320, etc.),

– un essai définitif comportant au moins 5 dilutions dans la gamme où les pourcentages d'immobilisation sont compris entre 0 et 100 % et débordent légèrement ces deux limites.

Chaque essai comprend ces diverses dilutions et les témoins constitués par l'eau de dilution seule. Effectuer les essais à l'éclairement normal du laboratoire et avec un photopériodisme de 12 à 16 h de lumière. Prendre toujours soin de choisir de façon aléatoire les poissons à introduire dans chaque récipient.

Essai statique

Pour l'essai définitif, opérer avec 2 récipients par dilution et par témoin contenant chacun 5 litres de liquide et 5 poissons. Couvrir les cuves et les maintenir à 23 ± 1 °C pendant 24 ou 48 heures. Enlever autant que possible les poissons dès leur mort. Après 24 heures et éventuellement 48 heures, dénombrer les morts et les survivants, mesurer le *p*H et l'oxygène dissous dans toutes les cuves. L'essai peut être prolongé à 96 heures à condition de s'assurer, par analyse, de la stabilité de la concentration du milieu.

Essai semi-statique

Pour l'essai définitif, opérer de la même façon au départ, c'est-à-dire avec 2 récipients par dilution et par témoin, de façon à traiter 10 poissons dans 10 litres d'eau à 23 °C ± 1 °C. À intervalles déterminés, généralement toutes les 24 heures, transférer tous les poissons vivants dans de nouveaux récipients identiques aux précédents et contenant la même dilution (témoin compris). Prendre soin d'effectuer ces transferts dans les conditions les moins traumatisantes possible. Après chaque transfert, mesurer le *p*H et

l'oxygène dissous dans toutes les cuves où ont séjourné les poissons.

La durée de l'essai est de 48 heures, avec renouvellement du milieu à 24 heures, ou 96 heures avec renouvellement toutes les 24 heures.

Essai dynamique

Avant de procéder à l'essai définitif, déterminer, par essai statique ou semi-statique, pendant la durée qui sera celle de l'essai dynamique, la gamme des concentrations à expérimenter.

Assembler au moins 6 séries d'appareils dont un témoin.

À l'aide des 5 dilutions en progression géométrique, couvrir le secteur qui faisait passer la mortalité de 100 % à 0 % dans les essais statiques ou semi-statiques.

Introduire 10 poissons dans chaque ballon et y maintenir un débit voisin de 2 L/h.

Vérifier, chaque jour, à la sortie de chaque ballon que :

– la température est bien égale à 23 °C ± 1 °C,

– la teneur en oxygène dissous n'est pas inférieure à 60 % de la saturation,

– la concentration du milieu étudié ne s'écarte pas de plus de 10 % de la concentration souhaitée.

Mesurer également le *p*H. Compter et retirer, au moins chaque jour, les poissons morts.

■ Expression des résultats

Les critères de validité de l'essai sont les suivants :

– Chaque fois qu'elle est mesurée, la teneur en oxygène dissous est égale ou supérieure à 60 % de la saturation ;

– Le pourcentage de mortalité des poissons-témoins ou le pourcentage de ces témoins faisant preuve d'un comportement anormal est égal ou inférieur à 10 % ;

– la CL50-24 heures du dichromate de potassium est comprise entre 200 et 400 mg/L, évaluée par la méthode statique.

Les concentrations létales s'expriment en mL d'eau ou d'effluent analysé par litre d'eau de dilution ou en pourcentage de dilution.

Pour évaluer la CL 50, calculer le pourcentage de mortalité à chaque concentration et retenir les couples de valeurs pour lesquels le pourcentage est compris entre 10 et 90 %. Porter ces résultats sur un diagramme gausso-logarithmique, les pourcentages en ordonnée (échelle probit) et les concentrations en abscisse (échelle logarithmique). Tracer la droite et en déduire la CL 50. La connaissance des concentrations provoquant 0 et 100 % de mortalité est également nécessaire dans ce cas.

Lorsque la forme de la courbe ne permet pas de déterminer de CL 50, énoncer les limites de mortalité de 0 et 100 % des individus.

Présentation des résultats

Outre les éléments d'identification indispensables et la référence éventuelle à une norme ou un document provisoire seront également indiqués :

– le mode de prélèvement de la solution ou de l'effluent et éventuellement leur traitement préliminaire (décantation…) et leur mode de conservation ;

– la provenance, les conditions d'élevage éventuel, la taille des poissons ainsi que leur CL 50-24 h du dichromate de potassium, évaluée par la méthode statique :

– la mortalité ou le comportement anormal des témoins ;

– les conditions de l'essai : récipients, volume, eau de dilution, durée, *p*H, oxygène dissous pour la méthode statique, avec en outre le nombre de renouvellements du milieu et leur horaire pour la méthode semi-statique, le mode de dilution, le débit et donc le taux de renouvellement (débit/volume du ballon) pour la méthode dynamique ;

– la CL 50, suivie de l'indication de la durée de l'essai et de la méthode (statique, semi-statique, dynamique), son mode de détermination à partir des pourcentages de mortalité et des dilutions, éventuellement son intervalle de confiance, le tracé concentration-mortalité sur diagramme gausso-logarithmique ;

– les concentrations minimale ayant provoqué 100 % de mortalité et maximale n'ayant provoqué aucune mortalité ;

– ainsi que tout autre détail utile sur les toxiques expérimentés, la procédure ou le comportement des poissons.

Remarques

– *Brachydanio rerio* a été choisi pour sa petite taille, sa robustesse et son homogénéité génétique. Il s'agit d'un poisson exotique qui peuple les rivières du nord de l'Inde. Il est, de ce fait, asez sensible au froid et relativement résistant au manque d'oxygène.

Les lots de « Poissons zèbres » disponibles dans le commerce comprennent souvent un certain pourcentage de *Brachydanio frankei* reconnaissables à leur robe tachetée alors que celle de *Brachydanio rerio* est franchement rayée. Il faut trier les espèces avec soin.

Le même protocole peut être utilisé sans modification avec d'autres espèces de poissons d'eau douce voisines de *Brachydanio rerio* :

– *Lepomis macrochirus* (Téléostéi, Centrarchidae).

– *Oryzias latipes* (Téléostéi, Poeciliidae).

– *Pimephales promelas* (Téléostéi, Cyprinidae).

– *Poecilia reticulata* (Téléostéi, Poeciliidae).

Méthodes de référence

NF EN ISO 7346-1 (mars 1998). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] – Partie 1 : méthode statique (Indice de classement : T90-303-1).

NF EN ISO 7346-2 (mars 1998). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce

[*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] – Partie 2 : Méthode semi-statique (Indice de classement : T90-303-2).

NF EN ISO 7346-3 (mars 1998). Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] – Partie 3 : Méthode avec renouvellement continu (Indice de classement : T90-303-3).

4.7 Détermination de la toxicité aiguë d'une substance vis-à-vis de *Salmo gairdneri*

■ Principe

On détermine la concentration qui, dans des conditions standardisées, est létale pour 50 % des *Salmo gairdneri* mises en expérimentation, après des durées d'exposition de 24 h, 48 h, 72 h ou 96 h.

Ces concentrations initiales létales sont désignées par CL(I) 50, avec indication du temps de contact.

L'essai peut être réalisé :

– sans renouvellement du milieu à analyser,

– avec renouvellement continu du milieu à analyser.

L'essai se déroule en 2 étapes :

– un essai préliminaire sur 24 heures, qui donne une indication approximative de la CL(I) 50-24 h et permet de déterminer la gamme de concentration à mettre en œuvre pour l'essai définitif,

– un essai définitif qui permettra d'accéder aux valeurs réelles des CL(I) 50.

□ Matériel spécial

MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Il s'agit de *Salmo gairdneri*, Richardson (Teleostei, salmonidae), appelée communément « truite arc-en-ciel). Les sujets doivent avoir une longueur de 6,0 cm ± 1,0 cm et provenir d'un lot unique. Ils doivent être maintenus avant l'essai pendant au moins 2 semaines dans une eau de qualité piscicole (pH compris entre 7,5 et 8,2 – dureté calcique comprise entre 20 et 30 degrés français – conductivité égale à 600 μS ± 60 μS à 20 °C). Maintenu dans des conditions d'éclairement et de température similaires aux essais, ce milieu doit être aéré en continu. Les poissons sont nourris normalement sauf pendant la période de 24 h précédant l'essai.

MATÉRIEL DE LABORATOIRE

– aquariums d'environ 20 litres pour les essais sans renouvellement du milieu ;

– récipients en verre de 4 à 6 litres équipés de 2 tubulures pour les essais avec renouvellement du milieu et dispositif de renouvellement continu des solutions (pompes par exemple) ;

– dispositif de régulation de température pour les milieux d'essai à 15 °C ± 1 °C.

☐ **Réactifs**

– Eau de dilution à pH 7,8 et saturée en oxygène :

Cette solution est préparée en suivant le mode opératoire décrit au § C-4.6.

D'une dureté calcique proche de 25 degrés français, cette solution sera aérée jusqu'à ce que la concentration en oxygène dissous soit proche de la concentration de saturation (>90 %). On ajustera si nécessaire le pH (avec hydroxyde de sodium ou acide chlorhydrique) pour qu'il soit compris entre 7,6 et 8,0.

– Dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) de qualité analytique.

■ Préparation des solutions d'essai

Les solutions d'essai sont préparées en diluant les solutions à étudier avec l'eau de dilution.

■ Contrôle de la sensibilité du réactif biologique

La sensibilité du lot de *Salmo gairdneri* mis en expérimentation sera contrôlée en parallèle des essais en remplaçant l'eau à étudier par une solution de bichromate de potassium. On doit obtenir une CL(I) 50-24 h comprise entre 250 et 450 mg/L.

■ Mode opératoire

Tous les essais sont réalisés à une température de 15 °C ± 1 °C et pour chaque essai on introduira, à l'aide d'une épuisette, 5 poissons dans chaque récipient.

La concentration en oxygène dissous sera contrôlée dans l'eau de dilution avant de procéder aux essais et l'eau sera aérée si nécessaire.

Essai préliminaire

Préparer des dilutions successives de l'eau à étudier avec l'eau de dilution. Une gamme d'au minimum 5 dilutions est requise.

Introduire chaque dilution dans un récipient. Ajouter 5 poissons par récipient (et mettre en marche le système de renouvellement continu dans le cas approprié).

Après 24 heures, noter le nombre de poissons morts et vérifier la teneur en oxygène dissous dans chaque récipient.

Déterminer l'intervalle de concentrations qui fait passer la mortalité de 0 % à 100 %. Cet intervalle de concentration sera choisi pour l'essai définitif.

Essai définitif

Préparer au moins 5 dilutions de façon à recouvrir l'intervalle de concentration qui, dans l'essai préliminaire, ont fait passer la pourcentage de mortalité de 0 à 100 %.

Disposer de 3 récipients pour chaque concentration et de 3 récipients supplémentaires pour un essai témoin (ces 3 derniers récipients ne recevront que de l'eau de dilution).

Ajouter 5 poissons dans chaque récipient (témoin y compris) et mettre en marche le système de renouvellement continu dans le cas approprié.

Noter après 24 heures de nombre de poissons morts dans chaque récipient.

Contrôler le pH et la concentration en oxygène dissous dans chaque récipient.

Pour la méthode avec renouvellement continu du milieu, on peut poursuivre l'essai et noter au moins 2 fois par jour pendant le temps souhaité (48 h, 72 h ou 96 h) le nombre de poissons morts dans chaque récipient.

Validité des résultats

Les résultats ne seront considérés comme exploitables que si les conditions suivantes sont respectées :

– concentration en oxygène dissous dans chaque récipient en fin d'essai au moins égale à 60 % de la concentration de saturation,

– mortalité des poissons inférieure à 10 % dans le témoin,

– CL(I) 50-24 h du dichromate de potassium comprise entre 250 et 450 mg/L.

Expression des résultats

Déterminer pour chaque concentration le pourcentage de mortalité observé dans les 3 récipients.

Utiliser un graphique gausso-logarithmique et représenter les résultats en reportant en abscisses (échelle logarithmique) les concentrations étudiées et en ordonnées (échelle gaussienne) les pourcentages de mortalité calculés. Faire un graphique pour chaque temps de contact (24 h à 96 h).

Tracer la droite de régression à partir des points pour lesquels les pourcentages varient de 10 à 90 % de mortalité. En déduire la CL(I) 50.

Méthode de référence

NF T 90-350 (juin 1985). Essais des eaux – Détermination de la toxicité aiguë d'une substance vis-à-vis de *Salmo gairdneri* : méthodes sans renouvellement et *avec renouvellement continu du milieu*.

5 • MÉTHODES BIOLOGIQUES POUR LE CONTRÔLE SUR SITE ET EN CONTINU DE LA TOXICITÉ DES EAUX

L'enjeu prioritaire de la surveillance en continu de la toxicité des eaux est la protection de la qualité des ressources en eaux destinées à la consommation humaine. L'information d'une dégradation potentiellle de la qualité de l'eau doit parvenir en temps réel à l'exploitant, ce qui lui permet de prendre sans délai les mesures conservatoires appropriées.

Les méthodes biologiques décrites dans les paragraphes précédents, qu'il s'agisse des indices biologiques ou des tests de toxicité, ne sont utilisables qu'en laboratoire. Pour la majorité d'entre elles, la mise en œuvre fait souvent appel à un personnel qualifié très spécialisé, avec des durées d'échantillonnage et d'analyse importantes, induisant donc des coûts analytiques souvent élevés. Ces méthodes d'essai conventionnelles ne permettent que des contrôles épisodiques et excluent toute possibilité d'intervention rapide si les résultats témoignent de l'existence d'une toxicité.

Si des suivis périodiques de la qualité des eaux s'avèrent suffisants dans le cadre des programmes de surveillance appliqués aux eaux naturelles, une détection rapide ou continue peut dans certaines situations stratégiques justifier la mise en place d'une station d'alerte (alimentation en eau potable, rejets d'effluents dans le milieu naturel, accidents avec risques de pollution…).

L'amélioration des contrôles environnementaux et leur utilisation à plus large échelle passe donc par la mise en œuvre d'outils utilisables sur site, voire même *in situ* ou en continu. Des développements technologiques réalisés au cours des deux dernières décennies mettent à disposition des gestionnaires des systèmes simples, parfois automatisés, autorisant souvent des réponses en temps réel.

La recherche de tests biologiques rapides, représentatifs des différents maillons de la chaîne alimentaire des eaux douces, a conduit à une multiplication des tests disponibles. Nous nous sommes attachés dans ce chapitre à montrer cette diversité d'approches en répertoriant les principaux tests utilisables sur site et en précisant leurs objectifs respectifs. Quelques exemples de biodétecteurs seront décrits.

Les capteurs utilisables en continu seront ensuite étudiés.

Le principe général de fonctionnement de tels biocapteurs est le suivant : une fraction de l'eau surveillée traverse en continu, ou par intermittence,

un récipient dans lequel sont maintenus des organismes vivants utilisés comme intégrateurs non-spécifiques des variations physico-chimiques du milieu. En cas de pollution, la modification de comportement des organismes entraîne l'émission d'un signal électrique qui déclenche une alarme. Plusieurs appareillages existent, opérationnels ou à l'état de prototypes.

5.1 Les tests biologiques utilisables sur site (ou toxkits)

5.1.1 Les biodétecteurs disponibles : principes de base et objectifs

Les outils sont dérivés des méthodes classiques des essais d'écotoxicité. Il s'agit de biocapteurs dont les caractéristiques doivent concilier de nombreux paramètres : la sensibilité, la robustesse, un nombre acceptable de fausses alertes, la faisabilité de l'exploitation des données, la corrélation entre les données exploitées et le risque toxique, la facilité et le coût de maintenance, etc.

Le fonctionnement de ces biocapteurs repose sur l'utilisation d'organismes vivants dont les exigences physiologiques spécifiques doivent être respectées.

Bien que certains de ces outils analytiques soient disponibles depuis plusieurs années, on ne dispose que de peu de retours d'expérience ou de résultats de tests d'intercalibration pour la majorité d'entre eux. Un état de l'art technique sur ces dispositifs serait nécessaire, d'une part pour contrôler leur fiabilité et la répétitivité des essais et d'autre part pour évaluer l'aptitude de ces outils à permettre une identification rapide des pollutions toxiques (corrélations avec les données des bioessais réalisés en laboratoire ou avec d'autres paramètres de contrôle).

Dans une grande majorité de cas, ces tests sont des adaptations pour le terrain des bioessais réalisés en laboratoire (cf. C-4) et utilisent les mêmes principes. Les modes de détection employées peuvent faire appel à un examen direct (œil nu, loupe binoculaire, microscope), à un spectromètre (pour suivre l'interruption d'un rayonnement lumineux ou sa diminution), une détection par Infra-rouge ou encore par effet Doppler.

D'approche simple pour des néophytes, ces tests ne nécessitent le plus souvent qu'une infrastructure et un équipement réduits et l'ensemble du matériel spécifique est inclus dans les kits commerciaux. C'est même fréquemment le cas des organismes testés qui peuvent être fournis dans les systèmes (sous forme dormante, bactéries déshydratées ou lyophilisées…), ce qui supprime les difficultés inhérentes à l'approvisionnement et/ou à la culture ou à l'élevage des espèces étudiées.

De nombreux détecteurs biologiques utilisables sur site pour la détermination de la toxicité des milieux aquatiques sont actuellement commercialisés. Le tableau ci-dessous en donne quelques exemples parmi les plus connus.

Les organismes sélectionnés pour ces tests balaient la chaîne alimentaire des écosystèmes aquatiques avec des choix d'espèces très diversifiés sui-

vant les fournisseurs. On note des vertébrés ou des invertébrés aquatiques (poissons, bivalves, crustacés) et des organismes cellulaires (bactéries, microalgues), ou encore des biomolécules (enzymes).

En ce qui concerne les paramètres mesurés, il s'agit fréquemment de toxicité aiguë, avec des temps de réponse qui fluctuent entre quelques minutes et quelques heures (24 à 48 heures au maximum. Parmi les autres paramètres mesurés, citons l'inhibition de croissance (algues, protozoaires), la diminution de l'activité photosynthétique (algues), les perturbations de l'activité respiratoire (bivalves), la modification du comportement et de la mobilité (poissons), le caractère mutagène (bactéries).

Appareillages de détermination de la toxicité des milieux aquatiques

Organisme	Espèce	Paramètre mesuré *(temps de contact échantillon/ organisme)*	Exemple de kits commercialisés
Bactérie bioluminescente	*Vibrio fischeri (précédemment Photobacterium phosphoreum)*	Toxicité aiguë *(15 à 30 minutes)*	Microtox™ TOXcontrol Biomonitor LumiStox Deltatox Analyzer ToxAlert Regensburger Leuchtbakterientest
		Toxicité aiguë *(de 30 secondes à 30 minutes)*	BioTox Flash Test
	Vibrio fischeri (mutant)	Effet mutagène (augmentation de la luminescence par cassure de l'ADN) *(16 à 24 heures)*	Mutatox™
Crustacés	*Daphnia magna* *Daphnia pulex*	Toxicité aiguë (tests d'immmobilisation) *(24 à 48 heures)*	Aqua Tox Control Daphnia Daphtoxkit™ Daphnia Daphtoxkit™ Pulex
	Thamnocephalus platyurus	Toxicité aiguë *(24 heures)*	Thamnotoxkit F™
	*Artemia salina**	Toxicité aiguë *(24 heures)*	Artoxkit M
	Heterocypris incongruens	Toxicité chronique *(6 jours)*	Ostracodtoxkit F
Rotifères	*Brachionus calyciflorus* *Brachionus plicatilis**	Toxicité aiguë (mortalité des organismes) *(24 heures)*	Acute Rotoxkit F™
		Effet chronique d'un stress toxique (inhibition de la croissance) *(48 heures)*	Short-Chronic Rotoxkit F
Complexes enzymatiques photosynthétiques		Inhibition de la fluorescence de la chlorophylle (diminution de l'activité photosynthétique) *(15 minutes)*	LuminoTox

Organisme	Espèce	Paramètre mesuré *(temps de contact échantillon/ organisme)*	Exemple de kits commercialisés
Algues	*Raphidocelis subcapitata* *Selestranum capricornutum*	Toxicité chronique (Inhibition de croissance) *(72 heures)*	Algaltoxkit F™
	Scenenedesmus subspicatus	Inhibition de la photosynthèse *(diminution de la fluorescence)* *(biocapteur en continu)*	Fluotox
	Chlorella vulgaris	Diminution de l'oxygène par diminution de l'activité photosynthétique	Biotoxitel
	Diverses algues bleues, vertes, brunes	Modification activité phtosynthétique (dosage de la chlorophylle par mesure de la fluorescence)	bbe Algae Toximeter AlgaeOnlineAnalyser AlgaeLabAnalyser
Protozoaires ciliés	*Tetrahymena thermophila*	Toxicité aiguë (Inhibition de croissance) *(24 heures)*	Protoxkit F™
Mollusques bivalves	*Crassostrea gigas et Mytilus edulis*	Ouverture valvaire	Valvomètre
Moules zébrées	*Dreissena polymorpha*	Système d'alerte rapide de la présence de polluants (enregistrement du mouvement des valves des moules)	Dreissena-Monitor
	Dreissena polymorpha ou *Mytilus edulis*		Mussel Monitor
Poissons	*Apteronotus albifrons*	Diminution de la fréquence des décharges électriques transmises par le poisson électrogène (contrôle en continu)	Gymnotox
	truitelles	Mouvement des truitelles	Biosem (Truitosem) Truitotest Truitel
	Leuciscus idus	Mobilité des organismes	Fishwarntest
	Onchorhynchus mykiss	Activité natatoire	WRc Fishmonitor
	Leuciscus idus	Rhéotactisme (= capacité à nager à contre-courant)	BehavioQuant

* pour estuaires et milieux marins.

5.1.2 Systèmes basés sur l'inhibition de la luminescence bactérienne

■ Principe

Le suivi repose sur la comparaison en parallèle de la luminescence de bactéries en suspension, respectivement dans une aliquote de l'eau à contrôler et d'une eau de référence. L'échantillon est mis à incuber en présence de la bactérie. Toutes les minutes, le pourcentage d'inhibition de la

luminescence par rapport à la suspension de référence est calculé. La mesure sur l'aliquote d'eau dure 30 minutes ; elle est suivie d'une phase de rinçage et de remise en route de 30 minutes.

Selon les appareils, les mesures sont discontinues ou en ligne.

□ **Matériel biologique**

– L'organisme utilisé est la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* commercialisée sous forme lyophilisée ou déshydratée. Cette bacterie a peu à peu remplacé *Photobacterium phosphoreum.*

■ Appareillages

Plusieurs appareils commercialisés utilisent ce principe : Microtox, Biotox, ToxControl Biomonitor, LumoStox, ToxAlert…

Utilisé avec succès depuis plus de 20 ans dans de nombreux pays (en particulier aux États-Unis et en France), le test Microtox mérite un intérêt particulier. Largement étudié, tant sur des eaux que sur des substances chimiques, il peut être considéré comme un test standard pour les études de toxicité. Les effets toxiques de nombreux composés sont pris en compte par Microtox : pesticides et métaux lourds en particulier.

■ Domaines d'application

La recherche de la présence de toxiques dans les eaux destinées à la production d'eaux potables constitue la majeure application de cette méthode. Des appareillages en ligne ont été développés à cet usage. Mais la méthode est également utilisée dans les laboratoires pour étudier l'incidence de traitements de dépollution sur le caractère toxique d'effluents ou de molécules.

5.1.3 Systèmes basés sur la fluorescence algale

■ Principe

Les cultures d'algues éclairées en lumière bleue (435 nm) réémettent en fluorescence dans le rouge (685 nm). La présence de polluant dans l'eau modifie leur activité photosynthétique, provoquant une augmentation de la fluorescence.

La qualité de l'eau à contrôler est suivie dans le temps par l'évolution de la fluorescence d'une population d'algues mise à son contact pendant 2 minutes. Une mesure peut avoir lieu toutes les 15 minutes. Les résultats des mesures sont traités par ordinateur et comparés à des seuils d'alarme.

La sensibilité de la culture d'algues utilisée est contrôlée par des mesures sur une substance de référence.

Les mesures sont discontinues et en ligne.

□ **Matériel biologique**

Les organismes utilisés sont des algues vertes unicellulaires *(Chlamydomonas reinhardii, Chlorella vulgaris*, ou *Scenedesmus subspicatus)*, des algues bleues ou des algues brunes.

■ Appareillages

Plusieurs appareils commercialisés fonctionnent suivant ce principe : AlgaeToximeter, AlgaeLabAnalyser, AlgaeOnlineAnalyser…

■ Domaines d'application

Les programmes de surveillance de la qualité des eaux de surface intègrent de plus en plus des outils de ce type pour des suivis en continu. L'Allemagne a été un précurseur en ce domaine, utilisant plusieurs de ces appareillages pour le suivi de la qualité des eaux du Rhin.

5.1.4 Systèmes basés sur l'activité photosynthétique algale

■ Principe

Les cultures d'algues éclairées produisent de l'oxygène. La présence de polluant dans l'eau modifie l'activité photosynthétique, et est à l'origine d'une diminution de l'oxygène dissous dans l'eau. La qualité de l'eau à contrôler est suivie dans le temps par l'évolution de la production d'oxygène d'une population d'algues mise à son contact. Les résultats des mesures sont traités par ordinateur et comparés à des seuils d'alarme.

Les mesures sont continues et en ligne.

□ Matériel biologique

Les organismes utilisés sont nombreux (voir tableau § C-5.1.1) : *Chlorella vulgaris, Scenedesmus subspicatus,* etc.

□ Appareillage

Les appareils commercialisés sont généralement reliés à un ordinateur et comporte un système de régulation de la température (la mesure se déroule à 25 °C), une source lumineuse avec transmission par fibres optiques, une électrode à oxygène dissous.

5.1.5 Systèmes basés sur l'activité locomotrice de la Daphnie

■ Principe

En présence de composés toxiques, la réaction des populations de daphnies à la lumière (phototactisme) se dégrade, provoquant des modifications de leur activité locomotrice.

Les mouvements d'une population de 20 Daphnies au contact de l'eau à contrôler sont comparés avec les mouvements d'une population équivalente maintenue dans une eau de référence. L'activité natatoire des Daphnies est quantifiée en infrarouge (ou en analyse d'image). L'apparition d'une toxicité est évaluée par comparaison entre le comportement natatoire des deux lots d'organismes. La mesure est alternative d'un lot à l'autre.

Les mesures sont continues et en ligne.

□ Matériel biologique

Les organismes utilisés sont des crustacés cladocères : *Daphnia magna ou Daphnia pulex.*

Appareillages

Plusieurs appareils commercialisés fonctionnent suivant ce principe : AquaToxControl Daphnia, Daphtoxkit (Daphnia ou Pulex)…

Domaines d'application

Ces systèmes paraissent bien adaptés au suivi de la qualité des eaux de surface et à la détection de rejets polluants dans le milieu naturel. Ils sont intégrés à des programmes de surveillance dans plusieurs pays européens.

5.1.6 Systèmes basés sur le mouvement des valves des moules

Principe

Les moules sont des mollusques bivalves filtreurs fixés. Une variation de la qualité du milieu provoque, par la variation du degré d'ouverture des valves, une modification du comportement de filtration des organismes. La mesure de l'amplitude de l'écartement des valves et leur rythme d'ouvertures/fermetures reposent sur la transformation du mouvement des valves en courant électrique par induction électromagnétique. Ces données sont numérisées et traitées informatiquement par comparaison avec des banques de données.

Les mesures sont continues et en ligne.

Matériel biologique

Les organismes utilisés sont des mollusques : *Dreissena polymorpha* (dulçaquicole) ou *Mytilus edulis* (marine).

Appareillage

Il existe plusieurs appareils, principalement le « Musselmonitor », le « Valvomètre » et le Dreissena Monitor. Ces appareils sont constitués d'un support sur lequel sont fixées de 5 à 8 moules, d'un système de conversion des mouvements en courant électrique, d'un convertisseur analogique/numérique et d'une centrale d'acquisition des données. Ils sont destinés à être immergés *in situ*.

L'autonomie des appareils est de plusieurs semaines.

Applicabilité

Les biocapteurs utilisant les moules fonctionnent en Europe et aux États-Unis, pour la surveillance de la qualité des eaux marines comme pour celle des eaux douces.

5.1.7 Systèmes basés sur le comportement de nage du poisson

Principe

Les poissons sont largement utilisés pour les tests de toxicité. En présence de polluants le poisson modifie son comportement :

– ses capacités de nage à contre courant (rhéotactisme) s'affaiblissent et il a tendance à être entraîné par le courant,

– il cherche à fuir les perturbations,

– sa fréquence de respiration et donc ses contractions musculaires diminuent.

Des appareillages permettent le suivi de ces modifications d'activité des poissons, utilisant les ultrasons, l'effet Doppler, une détection Infra-Rouge ou encore des électrodes.

□ **Matériel biologique**

Les organismes utilisés sont des poissons, Cyprinidés *(Leuciscus idus)* ou Salmonidés *(Onchorynchus mykiss)*.

■ Appareillages

Plusieurs appareils sont disponibles en Europe, ils sont souvent qualifiés de truitotests ou truitomètres, même certains d'entre eux utilisent des Cyprinidés.

Citons par exemple les appareils tels que Biosem (anciennement Truitosem), Truitel, BehavioQuant, Fishwarntest ou WRc Fishmonitor.

■ Domaines d'application

Utilisés majoritairement pour la surveillance de la qualité des eaux potables ou des eaux brutes servant à la production d'eau potable, on rencontre également certains de ces appareils pour surveiller la qualité des eaux lors de programmes de réalimentation de nappes ou encore pour évaluer la toxicité d'effluents industriels traités avant leur rejet dans le milieu naturel.

Nombre de ces appareils sont adaptables à un fonctionnement continu avec une autonomie de quelques jours à une semaine et certains feront l'objet d'un développement plus précis dans le paragraphe suivant sur les stations d'alerte (C-5.2).

5.1.8 Systèmes utilisant des poissons électrogènes

■ Principe

Ce test de toxicité exploite les signaux électriques naturellement émis par un petit poisson néotropical, *Apteronotus albifrons* (Gymnotiformes). Les facultés d'électrogenèse de ce poisson font qu'il émet un champ électrique ondulatoire se traduisant par des signaux électriques dont l'activité est extrêmement régulière. En présence de polluants, des anomalies sont détectées dans la régularité de ces signaux, la fréquence et de la forme du signal émis, constituant un fidèle reflet du métabolisme des gymnotiformes, et variant de façon proportionnelle à la gravité de la pollution présente dans le milieu.

■ Matériel biologique

Les organismes utilisés sont des poissons*: Apteronotus albifrons* (Gymnotiformes).

■ Appareillages

Le principal appareil commercialisé sur ce principe est le Gymnotox®. Il comprend une enceinte thermostatée et effectue l'analyse et le traitement informatique des informations électriques fournies par les poissons.

■ **Domaines d'application**

Cet appareil est adapté à la détection en continu des pollutions toxiques dans les eaux de surface (programmes de surveillance et protection des ressources en eau potable).

5.2 Les stations d'alerte

Dans le domaine de la protection des ressources en eau, l'utilisation de stations d'alerte constitue une pratique courante. L'informatisation des systèmes qui simplifie l'acquisition et le traitement des données ont permis un développement important de ces technologies. Intégrant le plus souvent des unités de prélèvement, ces systèmes autorisent la mesure en ligne de très nombreux paramètres physico-chimiques (pH, conductivité, turbidité, oxygène dissous, nitrates, phosphates…) incluant parfois des objectifs de détermination de la toxicité. Basés sur des procédures validées, ils sont d'une utilisation relativement simple, leur fonctionnement est automatisé et ils peuvent intégrer des arrêts automatiques et des alarmes voire même des téléalarmes avec l'envoi de messages d'alerte aux gestionnaires (courriels, messages téléphoniques). Ils connaissent des applications très larges pour la surveillance de la qualité des eaux naturelles (eaux de surface, protection des captages, distribution d'eau potable, détection des pollutions accidentelles) et le contrôle des effluents avant leur rejet dans le milieu naturel.

À côté des stations d'alerte fournissant un accès à des paramètres physico-chimiques, les biocapteurs sont en émergence, même si quelques technologies font l'objet d'applications sur de nombreux sites.

Les biocapteurs développés ou en cours de développement intègrent différentes approches :

– résultant d'une simple automatisation de tests normalisés réalisés en laboratoire, les bioréacteurs analysent les réponses comportementales des organismes (crustacés, poissons, bivalves) ;

– basées sur l'étude de fonctions métaboliques (respiration, bioluminescence, photosynthèse), les biosondes cellulaires donnent une réponse en temps réel ;

– utilisant des enzymes ou des anticorps des biocapteurs spécifiques pourront détecter la présence d'inhibiteurs enzymatiques ou de substances antigéniques, mais leur développement est encore limité.

Il serait difficile ici de faire un inventaire exhaustif de l'ensemble des capteurs utilisables comme système d'alerte de la toxicité d'un milieu. Nous limiterons la présentation à quelques systèmes parmi les plus usités et les mieux reconnus par les professionnels, et en particulier aux appareillages utilisant les truites, très largement installés sur les sites (voir tableau ci-dessous).

Systèmes d'alerte de la toxicité des eaux

Organisme utilisé	Nom commercial du biodétecteur pour mesure en ligne ou station d'alerte	Principe de fonctionnement
Bactéries luminescentes *Vibrio fischeri*	Automicrotox	Automatisation du test de laboratoire Microtox L'inhibition de la luminescence des bactéries est proportionnelle à la teneur en composés toxiques : le biodétecteur considère qu'une pollution toxique est présente quand on atteint une inhibition de luminescence supérieure à 20 %. Placés sur les rivières en amont des usines de production d'eau potable, ils sont utilisés comme stations d'alerte.
Algues *Scenenedesmus subspicatus*	Fluotox	Ce biodétecteur exploite l'activité photosynthétique des cellules algales. Une membrane en acétate de cellulose placée dans le courant d'eau immobilise les algues. Excitées par une radiation lumineuse ces algues émettent une radiation fluorescente qui est captée par une photocellule. La présence de polluants inhibe la photsynthèse et réduit donc la fluorescence émise. Un logiciel d'exploitation complète le dispositif.
Crustacés *Daphnia magna*	Aqua-Tox-Control-Daphnia	Ce biodétecteur exploite de façon combinée l'activité locomotrice des daphnies et leur phototactisme (attraction vers la lumière). Placées dans une cuve en verre, les daphnies sont soumises à des excitations lumineuses. Elles se dirigent donc vers la source lumineuse et leur comportement locomoteur est enregistré à l'aide de capteurs. En présence de composés toxiques, le phototactisme des crustacés est altéré et cette altération est traduite par le biodétecteur, provoquant le déclenchement d'une alerte.
Truites – truitelles	Truitotest Biosem (ex Truitosem) Truitotest Truitel	Plusieurs principes sont exploités pour ces biodétecteurs, alimentés en continu par l'eau étudiée : étude du comportement de nage des poissons : placés dans un champ ultrasonique, l'écho est réfléchi et transformé par effet Doppler en un signal analogique déclenchement d'une alarme lorsque les poissons affaiblis par le polluant deviennent incapables de nager à contre-courant. Ils obstruent alors le conduit d'évacuation de l'eau ou viennent percuter une grille reliée à un détecteur.
Moules zébrées *Dreissena polymorpha*	Dreissena Monitor	Ce système d'alerte est basé sur le mouvement valvaire des moules. Il exploite 2 types de réponse, le pourcentage de moules ouvertes et la fréquence des mouvements valvaires. Deux lots de 42 spécimens sont exposés dans un flux d'eau (canal). Un système informatique analyse et enregistre les mouvements valvaires et intègre ces paramètres pour donner un signal toutes les 5 minutes. Très utilisé en Allemagne sur les stations de surveillance des eaux.

6. TEST POISSON (*BRACHYDANIO RERIO*) ADAPTÉ À UNE POLLUTION ACCIDENTELLE

Ne seront traitées ici que les pollutions accidentelles présentant un caractère aiguë et un risque pour la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine. Dans ce cadre, c'est-à-dire, par exemple lors du déversement accidentel d'une citerne à proximité de puits de captage d'eau, les essais d'écotoxicologie sont réalisés suivant une procédure très différente de celle des essais normalisés. L'information recherchée est l'évaluation d'un risque toxique aigu et non pas le calcul d'une CI-50 précise.

Dans une telle situation, le laboratoire d'analyse accueille un grand nombre d'échantillons d'eau et doit donner dans les meilleurs délais des informations qualitatives sur le risque potentiel lié à chacun d'eux, et quantitatives par des dosages chimiques appropriés.

■ Échantillonnage

Pour permettre la réalisation des essais dans les meilleures conditions, prélever un volume minimum d'eau de 10 litres par point de prélèvement, utiliser des récipients convenablement nettoyés et si possible neufs.

■ Prétraitement des échantillons

Si le *p*H d'un échantillon s'écarte anormalement de la neutralité (inférieur à 5,5 ou supérieur à 8,5) il est conseillé de le ramener à la borne la plus proche de cet intervalle avant d'y introduire les organismes. De même, si la teneur en oxygène dissous est trop faible, il est préférable d'aérer l'échantillon avant l'essai.

■ Données physiques et physico-chimiques

Préalablement à tout essai écotoxicologique, il est indispensable de prendre, pour chaque échantillon la température, le *p*H, la conductivité et la teneur en oxygène dissous. Ces quelques informations permettent d'identifier certaines pollutions manifestes, voire d'expliquer une mortalité de poissons observée.

Si la nature chimique du polluant n'est pas connue, il est important, lors de la réception, de procéder à des observations qui orienteront les recherches : odeur (après réchauffement si nécessaire), couleur, présence de mousse après agitation, présence d'un film huileux en surface, etc.

☐ Matériel et réactifs

– **Matériel biologique** : poisson *Brachydanio rerio* (dit poisson-zèbre). Se référer au § C.4.6 pour les caractéristiques et les conditions d'élevage.

– Béchers d'environ 3 litres, soigneusement lavés.

– Eau de dilution synthétique : pH = 7,8, dureté calcique environ 250 mg/L, saturée en oxygène dissous :

Chlorure de calcium ($CaCl_2$, 2 H_2O)		294,0 mg
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$, 7 H_2O)		123,3 mg
Hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$)		63,0 mg
Chlorure de potassium (KCl)		5,5 mg
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Vérifier le pH de cette solution et l'ajuster si nécessaire, pour qu'il soit égal à 7,8 ± 0,2. Aérer cette eau de dilution pour que sa concentration en oxygène dissous atteigne au moins 90 % de la valeur de saturation.

■ Mode opératoire

Diluer chaque échantillon avec une eau du type de celle utilisée pour les essais sur poissons, de façon à obtenir une large gamme de dilutions (100 % - 50 % - 10 % - 1 %). Pour plus de facilité, les dilutions sont faites à l'éprouvette graduée, dans des béchers, et sans répétition. Introduire trois poissons *Brachydanio rerio* dans chaque dilution. Noter précisément l'heure du début de l'essai.

Examiner ensuite les organismes très régulièrement (au moins toutes les 15 minutes au début de l'essai). Noter soigneusement les troubles du comportement ainsi que chaque mortalité avec l'heure de l'observation : à t = 15, 30, 120 min. Dès qu'une mortalité, ou que des troubles de la nage des organismes, sont constatés, réaliser immédiatement deux dilutions supplémentaires de l'échantillon (soit 0,1 % et 0,01 % pour l'exemple ci-dessus), en notant précisément l'heure de la mise en route de cette étape de l'essai.

Une telle procédure permet de définir en quelques heures les échantillons présentant un risque toxique aigu. Cette information est en général exploitée pour l'orientation des analyses physico-chimiques à réaliser, pour la sélection des échantillons sur lesquels il sera intéressant de faire porter les efforts d'investigation, ou même pour des prises de décisions concernant l'exploitation des captages d'eau.

Les fiches de renseignement ci-après pourront être utilisées pour consigner les remarques et résultats.

FICHE DE PRISE EN CHARGE D'UN ÉCHANTILLON À LA SUITE D'UNE POLLUTION ACCIDENTELLE

IDENTIFICATION DE L'ÉCHANTILLON

Date : _____ / _____ / _____

Heure d'arrivée au laboratoire :

Numéro de l'échantillon :

Température de l'échantillon :

Température extérieure :

ORIGINE DE L'ÉCHANTILLON

Nature de l'eau prélevée :

Point de prélèvement :

Commune :

Département :

Localisation par rapport à un puits de captage, à une source, une rivière, une station d'épuration... :

Conditions de prélèvements :

ASPECT PHYSIQUE

Couleur :

Aspect :

Odeur :

Turbidité :

Remarques :

FICHE ANALYTIQUE

ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE

Volume de l'échantillon :

*p*H : Teneur en oxygène :

Conductivité : Hydrocarbures :

Autres mesures : Remarques :

ESSAI BIOLOGIQUE

Poisson

Nombre de poissons : Eau de dilution :

Volume testé : Remarques :

Aération :

Dilutions	100 %	50 %	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %
Heure de mise en route						
Mortalité à *t* 15 min						
Mortalité à *t* 30 min						
Mortalité à *t* 120 min						
Mortalité à *t* 24 h						

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre C-2

G. Tuffery, J. Verneaux :

— *Méthode de détermination de la qualité biologique des eaux courantes. Exploitation codifiée des inventaires de la faune de fond*. Trav. Selt. Tech. P.P., CERAFER, Paris, 1967.

— Une méthode zoologique pratique de détermination de la qualité biologique des eaux courantes. Indices biotiques. *Annals sc. Univ. Besançon*. Zool., 1967, 3, p. 79-89.

M. Lamotte, F. Bourlière (1971). *Problèmes d'écologie : l'échantillonnage des peuplements animaux des milieux aquatiques*. Paris, Masson.

A.L. Roux, H. Tachet, M. Neyon (1976). *Une technique simple et peu onéreuse pour l'étude des macro-invertébrés benthiques des grands fleuves. Bull. Écol.*, 7, (4), p. 493-496.

J. Verneaux (1976). Application de la méthode des « indices biotiques » à l'échelle d'un réseau hydrographique : cartographie de la qualité biologique des eaux. In P. Pesson *La pollution des eaux continentales*, Gauthier-Villard, Paris, p. 221-228.

J.M. Elliott, P.A. Tullet (1978). A bibliography of amplers for benthic invertebrates. *Occ. publs. Freshwat. Biol. Ass.*, 4.

J.M. Elliott, C.M. Drake, P.A. Tullet (1980). The choice of a suitable sample for benthic macroinvertebrales in deep rivers. Pollut. Rep. Dep. Environ., 8, p. 36-44.

M. Bournaud, B. Cellot (1981). *Méthodologie de prélèvement dans un fleuve en relation avec les mouvements de la faune benthique*. Univ. Lyon 1, Minist. Envirt, convention 78-123.

H. Tachet, M. Bournaud, P. Richoux (1981). *Introduction à l'étude des macro-invertébrés des eaux douces*. Univ. Lyon 1, Ass. fr. Limnol., Minist. Envirt, CRDP Lyon.

Chapitre C-4

J.F. Lichtfield, F. Wilcoxon (1949). A simplified method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 96, p. 99-113.

D.J. Finney (1971). *Probit analysis*. Cambr. Univ. Press.

OCDE (1980). Alga, growth inhibition test. OCDE Guideline for testing of chemicals, 201.

Environnement Canada. Méthode d'essai biologiquem: essai d'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce Selenastrum capricornutum. Rapport SPE 1/RM/25, nov. 1992.

Chapitre C-6

J. F. Lichtfield, F. Wilcoxon (1949). A simplified method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmac. exp. Ther.,* 96, p. 99-113.

H. F. Axelrod (1967). *Breeding aquarium fishes*. Vol. 1, T.H.F. Publication.

D. J. Finney (1971). *Probit analysis.* Cambr. Univ. Press.

J. Mertens (1973). Year-round controlled mass reproduction of the zebra fish. *Aquaculture*. 2, p. 245-249.

R. C. Eaton, R. D. Farley (1974). Spawning cycle and egg production of zebra fish. *Brachydanio rerio* in the laboratory. *Copeia*, 1, p. 195-204.

A. J. NIimi, Q. N. Laham (1974). Influence of breeding time interval on egg number, mortality and hatching of the zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Can. J. Zool.*, 52, p. 515-517.

W. Knauf (1975). Geräte zur Durchführung toxicologischer Langzeitstudien an Wasser organismen. *Arch. Fisch. Wiss.,* 25, p. 103-108.

J. W. Laale (1977). The biology and use or zebra fisch (*Brachydanio rerio*) in fisheries research. A litterature review. *J. Fisch. Biol.*, 10, p. 121-173.

R. D. Piron (1978). Spontaneous skeletal deformities in the zebra Danio (*Brachydanio rerio*) bred for fish toxicity tests. *J. Fish. Biol.*, 13, p. 79-83.

Chapitre C-7

D. Berckmans et coll. (1994). Daphnia monitor for continuous detection of water quality based on image analysis. Colloque européen Nancie. *Le recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux*. p. 113-121.

K. J. M. Kramer (1994). *Biomonitoring of costal waters and estuaries*. CRC Press, Boca Raton FL, p. 360.

P. Schmitz-Möller et coll. (1994). Automated biological test systems for continuous river monitoring in Germany. Colloque européen Nancie. *Le recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux*. p. 43.

B. Von Danwitz (1994). Bioessaiys for continuous monitoring of river quality in Northrhine-Wesphalia. *Le recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux*. p. 59-63

D

Eaux résiduaires

1 • GÉNÉRALITÉS

Il est évident que de très nombreuses méthodes d'analyse utilisées pour les eaux naturelles (et les eaux potables) sont également applicables aux eaux résiduaires urbaines, industrielles et d'autres origines. C'est particulièrement le cas du dosage des cations et anions (surtout ceux à l'état de traces) et de celui des micropolluants organiques. C'est aussi le cas de certains titres et potentiels (par exemple : conductivité, pH, rH, E_H), de la plupart des paramètres globaux (par exemple : MES, turbidité, DCO, DBO_5, COT, hydrocarbures, huiles et graisses) et de nombreux microorganismes.

Cette partie est donc beaucoup moins importante que les précédents sur l'analyse physico-chimique des eaux naturelles et l'analyse microbiologique des eaux. Elle est toutefois utile, car certaines méthodes analytiques sont plutôt spécifiques aux eaux usées (par exemple : DCO, septicité, matières décantables, cyanures, cyanates, agents de surface, huiles et graisses, composé soufrés réducteurs…). Par ailleurs, les teneurs élevées en matières en suspension et en matières organiques dissoutes dans les eaux résiduaires nécessitent fréquemment un pré-traitement de l'échantillon avant de pouvoir appliquer les méthodes de dosage des eaux naturelles, notamment pour les éléments traces et les micropolluants organiques.

1.1 Prélèvements

Compte tenu de la diversité de la nature des eaux résiduaires ainsi que des systèmes de transfert et de dilution, il n'existe pas de technique de prélèvement satisfaisante en toutes circonstances. Il est essentiel d'obtenir des prélèvements représentatifs du rejet et du milieu récepteur. En fonction du but à atteindre, le prélèvement sera manuel instantané ou automatique en continu. Lorsqu'il s'agit de contrôler des paramètres à l'état de traces ou susceptibles de très grandes variations. Il est nécessaire de tenir compte des risques de perte par précipitation, adsorption, ou évaporation. La constitution d'un échantillon moyen peut être obtenue à partir de prélèvements instantanés effectués avec des intervalles de temps réguliers. Si les analyses portent sur des composés organiques volatils, le mélange de plusieurs prélèvements n'est pas recommandé, il sera préférable d'effectuer l'analyse sur chaque prélèvement instantané. Il existe différents types d'appareils de prélèvements automatiques utilisant soit un système mécanique, soit le pompage ou l'aspiration.

Ils peuvent être asservis au débit ou au temps.

Qu'ils soient fixes ou mobiles, ces appareils doivent être entretenus régulièrement ; des vérifications métrologiques sont nécessaires. Les éléments en contacts avec l'échantillon (tuyaux, joints éventuels, cuves) devront être

inertes pour éviter des pertes de composés par adsorption ou la contamination des échantillons par relargage (plastifiants par exemple). Des blancs réalisés sur site avec une eau témoin doivent être effectués chaque fois que des analyses de composés à l'état de traces sont demandées.

Pour assurer une bonne conservation des échantillons, il est recommandé (voire impératif) de maintenir les prélèvements à 4 °C pendant toute la durée des prélèvements (groupe froid intégré au préleveur ou séparé).

Dans tous les cas, la localisation du ou des points de prélèvements nécessite une connaissance approfondie des installations et des lieux.

Pour le contrôle du milieu récepteur, l'échantillonnage doit être pratiqué à une distance suffisante du point de rejet, en tenant compte des caractéristiques de la dilution, des débits respectifs, et de la vitesse des courants. Dans le cas d'un contrôle simultané de l'effluent et du milieu récepteur, il est indispensable d'effectuer un prélèvement témoin en amont de la zone d'influence du rejet. Il y aura lieu de tenir compte de l'influence des digues, barrages et obstacles divers (ponts, corps morts, etc.) et éventuellement de celle de la navigation.

Pour le rejet proprement dit, indépendamment de l'identification précise du point de prélèvement, il sera parfois utile de préciser les types de traitements pratiqués sur les eaux usées, et de noter les caractéristiques habituelles : aspect, couleur, odeur, etc., ainsi que le caractère permanent ou intermittent du rejet. La composition des effluents peuvant varier dans la journée ou selon les saisons, il importe de prélever des échantillons réprésentatifs.

Les prélèvements asservis au débit, réalisés sur 24 heures permettent notamment de réaliser des bilans de fonctionnement des stations d'épurations, des calculs de charge polluante, d'établir le calcul des redevances pour les Agences de l'Eau, etc. Il est parfois utile de réaliser ces prélèvements sur plusieurs jours en continu ; ce qui nécessite de remplacer les flacons des préleveurs au moins chaque jour.

Le problème de l'échantillonnage des eaux usées est plus délicat que pour les eaux naturelles. S'il n'est pas réalisé dans de très bonnes conditions, les erreurs liées aux caractéristiques du prélèvement pourront être supérieures aux incertitudes analytiques.

Les prélèvements seront effectués dans des flacons propres en polyéthylène ou en verre borosilicaté, bouchés émeri ou téflon. Pour la conservation des échantillons et la caractéristique des récipients utilisés, le lecteur voudra bien se reporter au chapitre des prélèvements pour les eaux naturelles (A.1.3). En ce qui concerne les substances organiques à l'état de traces, les récipients utilisés devront de préférence être en verre brun borosilicaté, préalablement chauffés à 500 °C pendant 4 heures si possible.

Les échantillons soigneusement étiquetés et conservés à 4 °C seront transportés jusqu'au laboratoire dans un laps de temps ne dépassant pas 24 heures. Toutefois, un certain nombre de mesures seront à pratiquer sur place : température, *p*H, oxygène dissous, potentiel redox. En ce qui concerne les matières en suspension, leur mesure doit intervenir dans les 6 heures après le prélèvement. Si de très grosses particules sont présentes, tamiser l'échantillon au travers d'un tamis à mailles de 5 mm de côté (module AFNOR n° 38). L'eau ainsi préparée est dite « eau brute tamisée ».

Toujours prendre soin de bien d'homogéniser l'échantillon avant analyse.

1.2 Principaux renseignements à fournir pour une analyse d'eaux usées

1) Demandeur (industriel, organisme, service de l'État…)

2) Causes motivant la demande d'analyse (autorisation de rejet, contrôle de rejet) – Problèmes dans le milieu récepteur (mortalité des poissons, eutrophisation, etc.).

3) Caractéristiques et aspect du milieu récepteur – Usages du milieu récepteur – Conditions météorologiques particulières (sécheresse, pluies, crues, etc.) – Remarques éventuelles des riverains.

4) Identification du point de rejet et du point de prélèvement.

5) Origine de l'effluent (établissement agricole ou industriel, rejet urbain, etc.).

6) Caractéristiques du débit (permanent, intermittent, variable... volume) – Température. Courbe de débit en fonction du temps si mesure en continu.

7) Système d'épuration.

8) Analyses à effectuer (Conservateurs utilisés).

9) Situation du point de prélèvement – Date et heure.

10) Méthode de prélèvement (instantané ou automatique) – Fréquence – Durée – Matériel utilisé.

11) Observations particulières.

Méthodes de référence

NF EN ISO 5667-13 (octobre 1998). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 13 : guide pour l'échantillonage de boues provenant d'installations de traitement de l'eau et des eaux usées (indice de classement X33-006).

ISO 5667-2 (décembre 1991). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 2 : guide général sur les techniques d'échantillonnage.

NF EN ISO 5667-3 (juin 2004). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 3 : lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons (indice de classement T90-513).

NF EN ISO 5667-1 (mars 2007). Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 1 : ligne directrice pour la conception des programmes d'échantillonnage (indice de classement T90-511-1).

FD T90-523-2 (février 2008). Qualité de l'eau – Guide de prélèvement pour le suivi de qualité des eaux dans l'environnement – Partie 2 : prélèvement d'eau résiduaire (indice de classement T90-523-2).

1.3 Caractéristiques et composition des eaux usées

Selon leurs origines, les eaux usées se caractérisent par une grande variabilité de débits, mais aussi de composition. Elles peuvent contenir en concentrations variables :

– des matières en suspension plus ou moins facilement décantables ou coagulables,

– des matières colloïdales ou émulsionnées : argiles, microorganismes, macromolécules hydrophobes (organiques huiles, graisses, hydrocarbures, etc.), …

– des matières en solution de nature organique ou minérale, ou sous forme de gaz dissous,

– des microorganismes végétaux (algues, plancton, …) ou animaux (protozoaires, bactéries…).

Ces différents constituants des eaux usées présenteront des comportements spécifiques vis-à-vis des modes de traitement auxquels ils seront soumis avant leur rejet dans le milieu naturel. Ces comportements sont liés d'une part à la taille des particules présentes et à leur état physique (soluble, coagulable ou décantable) mais ils dépendent également pour une large part de leur aptitude à la biodégradation, à l'oxydation ou encore à l'adsorption. Mais la concentration des divers éléments dans les eaux brutes, de même que leur éventuelle toxicité doivent compléter ces informations de base.

Pour les eaux résiduaires urbaines, il est admis que le flux de pollution rejeté par habitant et par jour (appelé équivalent habitant) correspond en Europe de l'Ouest aux chiffres donnés dans le tableau ci-dessous. On considère en effet que les caractéristiques des eaux brutes varient suivant les habitudes alimentaires, le niveau de vie, le mode d'habitat (urbain ou rural) et la densité de population et le climat.

Flux de pollution pour les eaux résiduaires urbaines

Paramètre	Unité de mesure	Flux rejeté exprimé par habitant et par jour			
Débit	L	< 5000 hab **150 L**	de 5000 à 10000 hab **150 à 180 L**	de 10000 à 50000 hab **180 à 250 L**	> 50000 hab **250 à 500 L**
MES Matières en Suspension	g	90 g*			
DBO_5 Demande Biochimique en Oxygène	g d'O_2	60 g**			
DCO Demande Chimique en Oxygène	g d'O_2	Pas de valeur réglementaire			
MO Matières oxydables	g d'O_2	**57 g*** $MO = \frac{2(DBO_5)_{ad2} + DCO_{ad2}}{3}$ ad2 = après décantation pendant 2 heures			

Paramètre	Unité de mesure	Flux rejeté exprimé par habitant et par jour
NK Azote Kjeldahl	g de N	15 g*
P Phosphore total	g de P	4 g*
AOX Composés orgahalogénés adsorbables	g éq Cl	0,05
Métox Métaux et métalloïdes §	Sans unité	0,23

*selon l'arrêté du 10 décembre 1991.
** directive CE du 21 mai 1995.
§ correspond à la somme des concentrations de métaux et métalloïdes affectés d'un coefficient dépendant de leurs toxicités respectives.

D'origine principalement domestique, les eaux résiduaires urbaines reçoivent parfois une part significative d'effluents provenant d'établissements industriels. D'autre part, les réseaux de collecte dits « unitaires » s'enrichissent des eaux pluviales, au contraire des systèmes séparatifs qui comportent deux réseaux de canalisations distincts.

La composition des eaux résiduaires industrielles présente une extrême diversité selon le type d'industrie concernée (chimique, pétrochimique, pharmaceutique, minière, sidérurgique, mécanique, électronique, textile, agroalimentaire, pâtes et papiers, traitement de surface métalliques…) et au sein d'une industrie donnée, de notables différences de composition se distinguent en fonction de la nature de l'effluent (effluent de fabrication, bains de décapage, eaux de lavage, purges d'eaux de chaudières ou de circuits de refroidissement, eaux vannes…).

Pour caractériser chacun de ces effluents, on analysera donc les différentes catégories de rejets (pollution globale et spécifique), leurs débits (moyens et maximaux) et leurs concentrations pour estimer les flux de pollution par type de rejet.

Pour la définition des stations de traitement des effluents industriels, il est souvent intéressant de connaître le caractère dominant de la pollution présente, et en particulier s'il s'agit d'une pollution majoritairement organique (biodégradable ou non biodégradable) ou d'une pollution à dominante minérale (non biodégradable et éventuellement toxique).

1.4 Approches analytiques envisageables

La grande variabilité des eaux résiduaires (nature des polluants rencontrés, concentrations présentes), exclut le recours à un référentiel unique de caractérisation. Selon les effluents concernés et selon les objectifs, on pourra avoir recours :

– à l'analyse spécifique de certains polluants ou micropolluants, qu'ils soient chimiques ou bactériologiques,

– à l'analyse globale d'une classe de polluants (par exemple l'indice phénol ou les hydrocarbures totaux).

Mais il serait illusoire de vouloir caractériser et quantifier individuellement les très nombreux polluants différents présents dans les eaux résiduaires. Des paramètres globaux de pollution ont donc été introduits pour évaluer globalement cette pollution. Il s'agit :

– de paramètres basés sur des réactions chimiques (demande chimique en oxygène, carbone organique total…),

– de paramètres faisant intervenir des réactions biochimiques (demande biochimique en oxygène),

– de paramètres bactériologiques (bactéries coliformes, streptocoques, flore hétérotrophe totale…),

– de tests de toxicité reflétant l'impact d'une toxicité globale de l'effluent sur une population donnée (algues, bactéries, poissons…).

2 • CRITÈRES GLOBAUX DE POLLUTION

Pour évaluer et mesurer globalement la pollution des eaux résiduaires, plusieurs méthodes dites « critères globaux de pollution » sont disponibles depuis longtemps, mais toujours très utiles et utilisées.

Pour les effluents urbains, si le réseau de collecte est unitaire (eaux usées + eaux pluviales) ou pseudoséparatif (eaux usées + partie des eaux pluviales), il s'agira de distinguer l'évaluation de la pollution par temps sec de celle par temps de pluie. Par temps sec, la pollution des eaux résiduaires urbaines est généralement évaluée par la mesure des matières en suspension (MES, MVS, turbidité), de la pollution organique carbonée (DCO, DBO_5, COT), des différentes formes d'azote (NK, $N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NO_3^-$) et des principales formes de phosphore (PT, orthophosphates, polyphosphates). Par temps de pluie, les hydrocarbures et certains métaux lourds (Pb, Zn, Cu, Cd…) pourront être aussi détectés et quantifiés. Comme les eaux résiduaires (par temps sec ou par temps de pluie) véhiculent de très nombreux micro-organismes, dont des pathogènes, les analyses microbiologiques sont également des critères de pollution, notamment lorsque les eaux résiduaires, mixtes ou pluviales sont réutilisées (en irrigation par exemple). Nombre de ces critères d'évaluation de la pollution des eaux sont développés dans la partie A (analyse physico-chimique des eaux naturelles) et dans la partie B (analyse microbiologique des eaux). Ils ne sont donc pas développés ni dans ce paragraphe, ni dans les suivants, sauf quand ils sont spécifiques aux eaux résiduaires (comme la DCO). Certains paramètres particuliers (§ D-3) pourront être également recherchés comme les principaux composés soufrés réducteurs, les tensioactifs, la teneur en acides gras volatils, certains métaux, etc.

Pour les autres effluents (industriels, raffineries, hospitaliers, abattoirs, eaux de refroidissement, effluents d'élevages, etc.), ce sont les mêmes paramètres qui sont demandés aux laboratoires. En outre, la mesure d'autres paramètres particuliers pourra être recherchée (par exemple : composés organo-halogénés totaux, cyanures et cyanates, hydrocarbures, huiles et graisses, micropolluants organiques spécifiques, résidus pharmaceutiques, certains métaux, éléments radioactifs, etc.). Il en est de même pour les eaux de circuit de refroidissement (par exemple : hydrazine, morpholine). Ces paramètres particuliers sont développés dans le chapitre D-3.

Quel que soit le type d'eaux résiduaires, d'autres examens physico-chimiques peuvent être systématiquement demandés, il s'agit :

– du pH (cf. § A-5.3), du potentiel oxydo-réduction E_H (cf. § A-5.4) et du rH (cf. § A-5.5),

– de la température,

– de la conductivité et/ou salinité totale (cf. § A-5.1 et A-5.2),

– de la couleur (cf. § A-2.1) et éventuellement de l'odeur (cf. § A-2.2), bien que ce dernier paramètre puisse présenter quelques dangers (il n'est d'ailleurs pas conseillé de le pratiquer),

– de l'oxygène dissous (cf. § A-9.3).

Ces examens physico-chimiques ont été décrits en chapitre A (analyse physico-chimique des eaux naturelles) et ne sont donc pas repris dans cette partie sur les eaux résiduaires, à l'exception du pouvoir oxydo-réducteur (E_H et *r*H, § D-2.6).

Les critères globaux de pollution organique sont particulièrement importants, même si l'estimation de ce type de pollution est un problème complexe et délicat.

Du fait même de la nature très diverse des matières organiques et des divers stades de dégradation, il n'est pas possible de considérer qu'une seule méthode ou un seul test puisse permettre de saisir les données de l'ensemble du problème. L'oxydation des matières organiques pour donner de l'anhydride carbonique et de l'eau, et celle des composés minéraux de l'azote pour les substances quaternaires, conduit à une consommation de l'oxygène de l'eau, renouvelé par l'oxygène de l'air. En principe, les matériaux carbonés sont utilisés comme nutriments par les germes aérobies ; les ions ammonium sont oxydés (notamment par les nitrosomonas) en nitrites, ceux-ci étant à leur tour oxydés (notamment par les nitrobacters) en nitrates. Ces différentes réactions peuvent, dans un milieu très pauvre en oxygène comme les égouts ou les eaux stagnantes, conduire à la nécessité pour les bactéries de se procurer de l'oxygène aux dépens non seulement des nitrates et des nitrites mais à partir des sulfates avec dégagement d'hydrogène sulfuré. Si ces phénomènes d'oxydation peuvent être élaborés dans la nature, il est plus difficile de les reproduire au laboratoire et d'obtenir la dégradation ultime des matières organiques. Néanmoins certains tests comme la DBO permettent une appréciation des phénomènes par voie biologique, avec leurs inhérentes difficultés de reproductibilité.

Cependant, pour parvenir à une oxydation plus complète des matières organiques, ont été développées des méthodes chimiques utilisant des réactifs plus ou moins énergiques avec une méthodologie précise. Parmi les méthodes utilisées, celle au dichromate de potassium est la seule utilisée aujourd'hui. D'une façon générale, la dégradation des substances organiques par des tests chimiques étant différente, les résultats sont difficiles à comparer avec ceux obtenus pour les tests biologiques. En particulier l'oxydation obtenue avec le dichromate de potassium est extrêmement poussée sans être totale et aboutit pratiquement à la solubilisation des matières en suspension. Dans ces conditions on a une présentation maximale de la demande en oxygène, que les phénomènes naturels mettent beaucoup de temps à réaliser sans l'obtenir obligatoirement.

Les méthodes basées sur le carbone, dénominateur commun des matières organiques, se sont considérablement développées grâce à une évolution des performances de l'instrumentation. Ces techniques présentent l'avantage d'être applicables à toutes les catégories de produits organiques, donc de permettre d'apprécier d'une façon plus complète la pollution surtout en présence de composés difficilement oxydables. De plus, l'obtention des résultats est rapide et les dosages sont souvent automatisés.

2.1 Objectifs et principe des critères globaux

L'objectif des critères globaux de pollution est d'évaluer grâce à un paramètre unique le risque polluant associé aux effluents. Quelques concepts globaux émergent en effet en examinant l'impact d'un rejet sur un milieu naturel :

– la présence de matières en suspension provoque la mort des poissons par asphyxie et empêche la pénétration de la lumière dans les eaux,

– les matières oxydables consomment l'oxygène dissous et entraînent l'asphyxie des êtres vivants,

– la présence de substances à effet toxique dans les rejets inhibe le développement de certains organismes aquatiques ou provoque leur mortalité,

– le rejet de composés azotés et phosphorés peut provoquer un développement exagéré de végétaux dans les eaux de surface (eutrophisation).

Ces considérations sont à l'origine du développement des paramètres MES (matières en suspension), Métox pour évaluer la toxicité minérale d'un effluent ou matières inhibitrices pour globaliser les effets toxiques des composés minéraux et organiques et des analyses des formes de l'azote et du phosphore.

S'agissant de déterminer les matières oxydables d'un effluent ou d'approcher sa teneur globale en matière organique, d'autres approches ont été développées.

La première approche analytique s'appuie sur le fait que le rejet de matières organiques dans le milieu naturel conduit à une dégradation de cette matière organique, provoquant la consommation de l'oxygène du milieu. Il a donc été recherché une simulation de cette consommation en oxygène en utilisant :

– une oxydation chimique de l'effluent. C'est ce qui a été développé dans la méthode de la DCO (demande chimique en oxygène), de même que dans celui de l'indice permanganate (IP), dont l'usage concerne essentiellement les eaux naturelles,

– une dégradation par voie biochimique (biodégradation) en mettant l'échantillon en présence d'une population de microorganismes. Cela a donné naissance au paramètre DBO (demande biochimique en oxygène).

Les résultats de ces différentes méthodes s'expriment alors en mg d'oxygène par litre.

Parallèlement, d'autres méthodes se sont développées utilisant la décomposition (si possible complète) de toutes les matières organiques présentes. Ces techniques font appel à des procédés d'oxydation (par voie thermique en présence d'un catalyseur, par voie chimique, par voie photochimique ou encore par voie biologique). Ces techniques d'oxydation dégradent la matière organique en la minéralisant (transformation en composés minéraux correspondants), comme l'illustre la réaction suivante, pour une molécule hypothétique CxHyOzNtPvXw (où X représente un atome d'halogène : F, Cl, Br, I), oxydée totalement en milieu aqueux :

$$CxHyOzNtPuSvXw + n\,O_2 \xrightarrow[\text{en milieu aqueux}]{\text{Oxydation}} \begin{array}{l} x\,CO_2 \\ + t\,NH_3 \\ + u\,H_3PO_4 \\ + v\,H_2SO_4 \\ + w\,HX \\ + m\,H_2O \end{array}$$

Pour la consommation d'oxygène, cette équation correspond à une demande théorique en oxygène, pas toujours atteinte pour l'ensemble des paramètres.

L'analyse des produits d'oxydation permet d'accéder à différents paramètres :

– le carbone organique total, en analysant le CO_2 produit,

– l'azote organique en analysant le NH_3 produit,

– le phosphore total en analysant P_2O_5 formé,

– les composés organohalogénés en analysant les acides halogénés HX formés.

En déterminant la quantité d'oxygène consommée lors de la biodégradation on accédera enfin au paramètre demande biochimique en oxygène (DBO).

C'est l'ensemble des paramètres dérivant de ces approches déterministes qui est décrit dans ce chapitre.

Il faut cependant noter que ces méthodes peuvent prendre en compte toute substance présentant un caractère réducteur et certains composés minéraux réducteurs seront également oxydés. Dans l'impossibilité d'éviter l'oxydation de ces composés, il a été admis de les inclure comme partie prenante de ces tests, même si ce n'est pas l'objectif premier. Mais on essaiera toutefois d'éliminer certains composés majeurs qui limiteraient la représentativité de certains tests. C'est le cas des ions chlorure, qui seront complexés pour la détermination de la DCO.

2.2 Matières en suspension (MES et MVS)

■ Préparation de l'échantillon

Débarrasser l'échantillon des éléments grossiers au moyen d'un tamis à mailles carrées de 5 mm de côté (module AFNOR n° 38). En présence de graisses et d'huiles, homogénéiser l'eau brute tamisée.

■ Mode opératoire

La détermination des matières en suspension (MES) dans les eaux usées se fait soit par filtration sur membrane, soit par centrifugation.

– Méthode par filtration sur membrane : se reporter à la détermination des matières en suspension dans les eaux naturelles (A-3.3.1).

– Méthode par centrifugation : se reporter à la détermination des matières en suspension dans les eaux naturelles (A-3.3.2).

Conserver les eaux issues des opérations de filtration ou de centrifugation pour la détermination des matières en solution.

Un traitement à 525 ± 25 °C permet d'obtenir par différence la teneur en matières organiques en suspension, appelées encore matières volatiles en suspension (MVS). Il peut y avoir des erreurs par défaut (matières organiques volatiles à moins de 100 °C) et par excès (sels minéraux dissociés ou volatils entre 100 et 500 °C).

Remarques

– Les matières en suspension étant susceptibles de variations dans les 24 h suivant le prélèvement, il convient de pratiquer cette mesure très rapidement, dans les 6 h qui suivent. Les échantillons seront également transportés et conservés à 4 °C.

– *Matières en suspension dans les eaux de chaudières.* Les chaudières fonctionnant à une pression de 1,4 kg/cm^2 peuvent contenir des matières en suspension jusqu'à une teneur de 350 mg/L. L'utilisation de coagulants provoque leur sédimentation. Pour estimer leur concentration, il peut être suffisant de recueillir un échantillon dans un tube jaugé et de lire le volume de boues. Les résultats sont exprimés en millilitres par litre d'eau.

2.3 Turbidité

La turbidité des effluents résiduaires et des eaux polluées est en général très élevée, elle ne peut de ce fait être exprimée en gouttes de silice ou de mastic. La turbidité est donc définie par absorptiométrie. La mesure est effectuée au moyen d'un spectrophotomètre à 720 nm, car à cette longueur d'onde l'influence de la couleur est négligeable. Pour éviter l'interférence due à la présence de grosses particules décantables, il convient de les éliminer au préalable par décantation.

Les résultats sont exprimés en unités d'absorbance. L'appareil est étalonné avec des suspensions de matières non décantables obtenues à partir de masses définies de sédiments de fond du bassin dont l'eau est étudiée. Pour éliminer les matières solubles, ces sédiments sont traités à l'ébullition par de l'acide chlorhydrique dilué à 50 %, puis lavés abondamment à l'eau permutée. Il s'agit donc là essentiellement de mesures de comparaison dans des cas bien définis.

Dans le domaine de l'exploitation des stations d'épuration, la méthode de Secchi est très largement utilisée (A-3.5.2).

2.4 Matières en solution

Dans une capsule en acier inoxydable, silice ou platine, tarée après passage au four à 525 °C et refroidissement dans un dessiccateur, introduire une fraction connue de l'eau issue de la centrifugation ou de la filtration. Évaporer au bain-marie jusqu'à siccité. Porter le résidu à l'étuve jusqu'à

masse constante. Peser. Introduire ensuite la capsule au four et minéraliser pendant 2 heures à 525 °C ± 25 °C. Laisser refroidir au dessiccateur et peser à masse constante. Soit X la masse de l'extrait sec à 100 °C, et X' la masse du résidu après minéralisation à 525 °C ± 25 °C (fraction dite minérale) dans la prise d'essai.

$X - X'$ représente la masse de la fraction dite organique dans la prise d'essai.

Remarques

– Une température supérieure à 525 °C ± 25 °C, peut entraîner une destruction partielle des chlorures.

– En présence de quantités importantes d'hydrogénocarbonates, il peut être utile de pratiquer une mesure complémentaire après dessiccation à 180 °C.

– Éviter d'avoir un résidu supérieur à 200 mg.

2.5 Matières décantables

Se reporter à la détermination des matières décantables dans les eaux naturelles (cf. § A-3.2).

2.6 Matières totales ou matières sèches (MS)

Ce sont les matières déterminées par évaporation de l'eau brute tamisée. Elles peuvent aussi être calculées en faisant la somme des matières en suspension et des matières en solution. C'est en fait le résidu sec sur l'eau brute tamisée.

Évaporer au bain-marie 100 mL d'eau brute tamisée. Porter le résidu à l'étuve à 105 °C pendant 2 heures. Laisser refroidir au dessiccateur. Peser. Soit Y la masse de l'extrait sec à 105 °C. Passer ensuite dans un four à 525 ± 25 °C pendant 2 heures. Laisser refroidir au dessiccateur. Soit Y' la masse du résidu.

Y = Masse des matières totales dans la prise d'essai.

Y' = Masse de la fraction minérale des matières totales dans la prise d'essai.

$Y - Y'$ = Masse de la fraction organique des matières totales dans la prise d'essai.

Remarque

Les résidus sont déterminés dans les mêmes conditions que celles indiquées pour les eaux naturelles. Cependant, étant donné les caractéristiques très variables des eaux résiduaires, en particulier en ce qui concerne la nature des produits, il faut s'attendre à la perte des composés volatils, à certaines difficultés lors du passage au four et pour l'obtention de résidus à masse constante.

2.7 Pouvoir oxydo-réducteur (E_H et *r*H)

Les eaux résiduaires (notamment urbaines) présentent un potentiel d'oxydo-réduction qui peut être mesuré grâce à une cellule électrochimique constituée d'une électrode de mesure (platine) et d'une électrode de référence (cf. § A-5.4). Quand l'électrode de référence est l'électrode standard à hydrogène (ESH, couple $H^+/H_{2\,(g)}$ avec $E^0{}_H = 0$) la mesure du potentiel lié au déplacement des électrons, donne la valeur de E_H. Comme l'électrode de référence est très souvent l'électrode dite « au calomel » ($Hg_{(l)}/Hg_2Cl_2$, KCl-4,6 M, $E^0{}_H = 0{,}244$ volts à 25 °C), la valeur du potentiel mesuré est :

$$E_{cal} = E_H - 0{,}244 \text{ V}$$

On définit également l'indice rH (cf. § A-5.5). comme étant le cologarithme de la pression partielle en hydrogène, -log p_{H2}. En effet, l'expression de NERSNT pour le couple H^+/H_2 s'écrit :

$$E_H = E^0{}_H + (0{,}059/2).\ \log\ [(a_H)^2/p_{H2}]$$

avec $E^0{}_H = 0$ et $\log\ (a_H)^2 = -\ 2$ pH

L'indice rH peut être alors calculé par :

$$rH = [E_H/0{,}029] + 2 \text{ pH}$$

Remarques

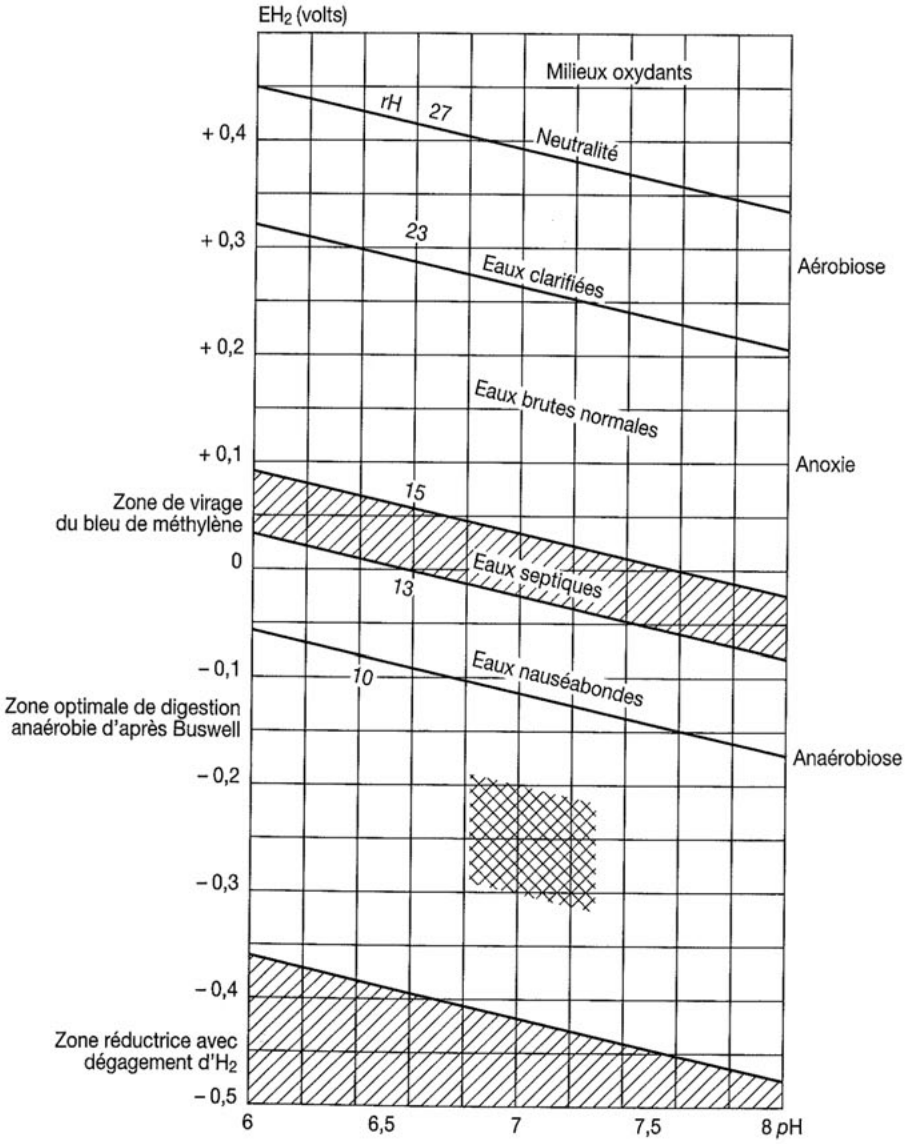
– Les eaux usées urbaines fraîches et récemment recueillies ont un E_0 qui avoisine 100 mV. Le milieu réducteur (fosses septiques, putréfactions lors de stase dans les réseaux, corps chimiques réducteurs) se traduit par un E_0 inférieur à 40 mV, voir négatif (*voir* figure).

– *Les valeurs de r*H *supérieures à* 25-27 caractérisent un milieu oxydant. les produits de dégradation chimique et biochimique sont à leur plus haut degré d'« oxygénation » (sulfates, nitrates, anhydride carbonique).

– *Les valeurs de r*H *comprises entre* 15 *et* 25 traduisent des conditions de milieu *aérobie* qui favorisent l'oxydation des composés organiques et le passage aux formes oxygénées citées plus haut. C'est le milieu « aéré » classique des eaux brutes normales qui, sous l'effet de l'activité bactérienne et de l'apport d'oxygène voient leur *r*H évoluer de 15 à 23-25 environ.

– *Les valeurs de r*H *de* 13 à 15 définissent la zone de transition entre les milieux aérobie et anaérobie. C'est aussi la zone de virage du *bleu de méthylène,* réactif utilisé pour tester la putrescibilité des eaux. Coloré en *bleu* pour des valeurs de *r*H supérieures à 15, il se décolore dès que la valeur du *r*H est inférieure à 13.

– *Les valeurs de r*H inférieures à 13 caractérisent les milieux *réducteurs* : eaux septiques (*r*H = 13), eaux nauséabondes (*r*H = 10), etc.



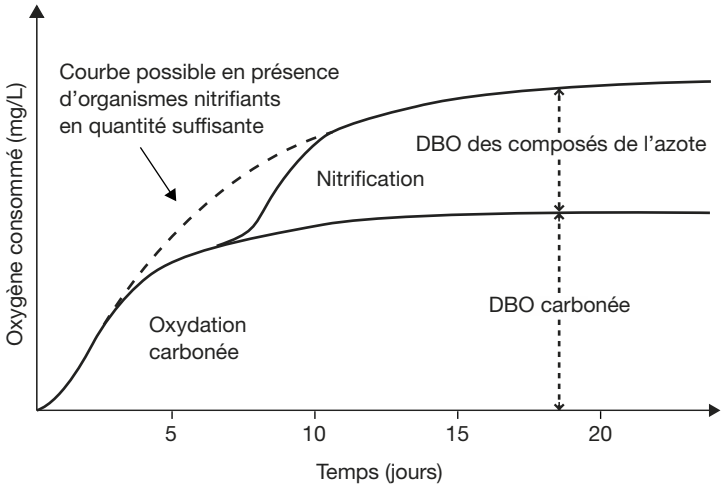
Caractérisation des eaux résiduaires par leur potentiel d'oxydo-réduction
(d'après le Mémento Technique de l'Eau avec l'aimable autorisation de la Société Degrémont)

2.8 Demande biochimique en oxygène (DBO)

Le test de la demande biochimique en oxygène a constamment fait l'objet de discussions. Amélioré et précisé, dans des conditions de *p*H, de température, de salinité bien déterminées, il constitue cependant un moyen

valable de l'étude des phénomènes naturels de destruction des matières organiques. Les difficultés d'application, d'interprétation des résultats, de reproductibilité, sont liées au caractère biologique de la méthode. La courbe de consommation d'oxygène est d'abord faible puis s'élève rapidement jusqu'à un plateau, sous l'action de la phase logarithmique de croissance. L'oxydation des matières organiques n'est pas le seul phénomène en cause ; il faut y ajouter l'oxydation des nitrites et des sels ammoniacaux ainsi que les besoins nés des phénomènes d'assimilation et de la formation de nouvelles cellules.

La figure ci-dessous montre une courbe typique de DBO obtenue sur un effluent urbain.



Exemple de courbe de DBO pour un effluent urbain

L'étape de nitrification prend également en compte les sels ammoniacaux formés lors de l'oxydation carbonée, cette oxydation carbonée pouvant s'écrire schématiquement à l'aide de l'équation suivante :

Matière organique + oxygène + microorganismes + éléments nutritifs

➔ sous-produits de biodégradation (CO_2, H_2O, NH_3…)
+ biomasse bactérienne

> Mais la mesure de la DBO ne doit pas prendre en compte la nitrification de l'azote ammoniacal. Il est donc préconisé dans la majorité des protocoles d'empêcher ces réactions par ajout du réactif allyl thio-urée (ATU).

La détermination de la DBO est également influencée par la nature et la quantité de microorganismes présents. Et, d'autre part, il est important de réaliser la détermination avec des organismes adaptés à la nature de la matière organique présente dans l'échantillon. Dans le cas contraire, la valeur mesurée de DBO ne donne aucune indication sur la biodégradabilité

de l'effluent concerné. Cette exigence d'une flore bactérienne adaptée est facile à réaliser avec les eaux résiduaires qui contiennent déjà cette flore, mais cela peut être très délicat avec certaines eaux résiduaires urbaines, qui, en plus de ne pas héberger les microorganismes susceptibles de biodégrader les composés présents, peuvent contenir des substances inhibitrices (molécules toxiques vis-à-vis de la flore bactérienne) ou posséder des conditions de milieu inadapté à la survie et à la croissance des microorganismes (pH, teneur en oxygène, absence de nutriments, salinité…). Tous ces éléments devront être pris en compte pour effectuer une mesure réaliste de la DBO.

Par ailleurs, certains corps réducteurs comme les sulfures, les sulfites, le fer ferreux, susceptibles d'être rencontrés dans les effluents industriels réagissent aussi sur la consommation de l'oxygène. Le problème se compliquera encore en présence de mélanges de rejets d'origines diverses. Pratiquement, la demande biochimique en oxygène devrait permettre d'apprécier la charge du milieu considéré en substances putrescibles, son pouvoir auto-épurateur et d'en déduire la charge maximale acceptable, principalement au niveau des traitements primaires des stations d'épuration.

Pour sa détermination, on dispose :

– d'une méthode par dilution qui ont pour principe d'établir une dilution de l'eau riche en matières organiques par une eau apportant l'oxygène dissous dont on mesure la quantité résiduelle, dans des conditions opératoires bien déterminées ;

– d'une méthode sans dilution destinée aux eaux de faible DBO (< 6 mg/L O_2),

– de méthodes instrumentales qui sont dérivées de méthodes respirométriques permettant de suivre automatiquement l'évolution de la demande biochimique en oxygène au cours de l'oxydation des matières organiques contenues dans l'eau. L'oxygène apporté au milieu peut être fourni soit par l'électrolyse d'une solution acide diluée, la mesure de la quantité de courant débité étant alors proportionnelle à la consommation d'oxygène, soit délivrée par une pompe doseuse à partir d'un réservoir d'oxygène pur à la pression atmosphérique. Les conditions de la mesure, pendant laquelle l'eau à étudier est en équilibre avec une atmosphère dont la pression et la concentration en oxygène demeurent constantes, se rapprochent ainsi des conditions réelles de l'auto-épuration d'une eau usée.

Avant l'analyse, l'eau brute tamisée est décantée dans un cône spécial pendant deux heures. L'eau résiduaire est alors prélevée par siphonnage dans la zone centrale de l'éprouvette.

2.8.1 Méthode par dilution

La demande biochimique en oxygène (DBO_5) est définie comme la quantité d'oxygène consommée dans les conditions de l'essai, c'est-à-dire après incubation durant 5 jours, à 20 °C et dans l'obscurité, par certaines matières présentes dans l'eau, principalement pour assurer leur dégradation par voie biologique. La mesure de la quantité d'oxygène consommée est suivie dans une solution ensemencée ou non.

Principe

Mesure de l'oxygène consommé en cinq jours par un échantillon dilué avec une eau saturée en oxygène, ensemencée avec des germes, puis placé dans une enceinte thermostatée à 20 °C.

Matériel spécial

– Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 mL.
– Enceinte thermostatée à 20 °C ± 1 °C.
– Matériel nécessaire au dosage de l'oxygène dissous (A-4.3), de préférence un oxymétre.

Réactifs

INOCULUM BACTÉRIEN POUR ENSEMENCEMENT

Si l'eau à analyser n'est pas riche en microorganismes, on pourra ajouter selon les cas l'un des inoculum suivants :

– eau résiduaire urbaine fraîche (de préférence après décantation),
– boue urbaine fraîche prélevée par exemple dans un bassin d'épuration biologique,
– eau de rivière, prélevée quelques kilomètres en aval d'une station épuration urbaine,
– réactif d'ensemencement disponible dans le commerce.

SOLUTION TAMPON DE PHOSPHATES (pH = 7,2)

Dans une fiole jaugée de 1 L, dissoudre successivement les réactifs suivants avec de l'eau déionisée :

dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		8,50 g
hydrogénophosphate de dipotassium (K_2HPO_4)		21,75 g
monohydrogénophosphate de sodium dihydraté (Na_2HPO_4, $2H_20$)		33,40 g
chlorure d'ammonium (NH_4Cl)		1,70 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

SOLUTION SALINE

Dans une fiole jaugée de 1 L, dissoudre successivement les réactifs suivants avec de l'eau déionisée :

chlorure de fer (III) hexahydraté ($FeCl_3$, 6 H_2O)		0,25 g
sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4$, 7 H_2O)		22,5 g
chlorure de calcium ($CaCl_2$)		27,5 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

SOLUTION DE CONTRÔLE GLUCOSE/ACIDE GLUTAMIQUE

Cette solution doit être préparée chaque jour avec des réactifs préalablement séchés à 105 °C pendant 1 h :

D-glucose anhydre ($C_6H_{12}O_6$)		150 mg ± 1 mg
Acide glutamique ($C_5H_9NO_4$)		150 mg ± 1 mg
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Cette solution présente une demande théorique en oxygène égale à 307 mg/L d'oxygène.

Sa DBO empirique est la suivante :

– DBO_5 = 210 mg/L ± 20 mg/L
– DBO_7 = 225 mg/L ± 20 mg/L

SOLUTION D'ALLYL THIO-URÉE À 1 g/L

Allyl thio-urée ($C_4H_8N_2S$)		500 mg
Eau déionisée	q.s.p.	500 mL

Stockée à 4 °C, cette solution se conserve environ 2 semaines.

Mode opératoire

PRÉPARATION DE L'EAU DE DILUTION

Pour préparer 1 L d'eau de dilution, on ajoutera à 1 L d'eau déionisée :

– 1 mL de la solution tampon de phosphates,

– 1 mL de la solution saline.

Cette solution sera amenée à 20 °C et aérée pendant au moins 1 heure en prenant soin de ne pas la contaminer. Vérifier que la teneur en oxygène dissous est voisine de la concentration de saturation à 20 °C (9,1 mg/L). Laisser reposer à 20 °C dans un récipient débouché pendant environ 1 h avant usage et l'utiliser dans les 24 h.

PRÉPARATION DE L'EAU DE DILUTION ENSEMENCÉE

Ensemencer l'eau de dilution juste avant son utilisation en ajoutant 5 mL (*) d'inoculum bactérien pour ensemencement.

Si l'eau à analyser est une eau résiduaire urbain, cet ensemencement n'est pas nécessaire.

CALIBRATION DE L'OXYMÈTRE

Lire soigneusement la notice de l'appareillage et effectuer les opérations de calibration.

CONSERVATION DE L'ÉCHANTILLON

La détermination de la DBO doit être commencée le plus tôt possible après le prélèvement et dans tous les cas dans un délai inférieur à 24 h.

Si ce n'était pas possible, on peut éventuellement envisager de congeler l'échantillon avant la mesure. Mais dans ce cas, il faudra nécessairement ensemencer l'eau de dilution avec un inoculum bactérien.

CHOIX DES DILUTIONS À RÉALISER SUR LES ÉCHANTILLONS

Il est recommandé de réaliser trois dilutions (ou plus) pour chaque échantillon.

Il convient en effet que la teneur en oxygène dissous après 5 jours d'incubation soit encore suffisante pour ne pas être considéré comme un facteur limitant pour la réaction de biodégradation. On considère en général que la concentration résiduelle en oxygène dissous se situe entre 1/3 et 2/3 de la concentration initiale.

Vu la difficulté à choisir le taux de dilution idéal, on cherchera à évaluer la DBO présumée pour chaque échantillon, par exemple en évaluant sa DCO et en estimant la fraction biodégradable (cf. § D-2.16).

(*) Vérifier que la teneur en matière organique de cet inoculum n'interfère pas significativement sur la mesure de la DBO (essai à blanc). La demande chimique en oxygène en 5 jours de l'eau de dilution ne doit pas excéder 1 mg/L d'oxygène. Si c'est n'est pas le cas, le volume d'inoculum pourra être modifié.

On nommera F le facteur de dilution réalisé. Si la dilution est au 1/100e, le facteur de dilution F est égal à 100.

On peut considérer approximativement que si la valeur de la DBO présumée est égale à X, le facteur moyen de dilution présumé est voisin de X/4.

Préparation des solutions d'essai

Placer l'échantillon à 20 °C et attendre la stabilisation de sa température.

Dans une fiole jaugée de 250 ou 500 mL, diluer l'échantillon avec l'eau de dilution (éventuellement ensemencée) pour obtenir la dilution convenable. Trois dilutions différentes seront préparées pour chaque échantillon.

Ajouter dans chaque flacon la solution d'allyl thio-urée à raison de 2 mL par litre d'échantillon dilué.

En prenant toutes les précautions nécessaires pour éviter de modifier la teneur en oxygène dissous de cette dilution, on réalisera les opérations suivantes sur des fractions de chaque dilution :

– Vérification du pH de chaque dilution. Il doit être compris entre 6 et 8. Si ce n'est pas le cas, le pH sera ajusté soigneusement à l'aide de solutions d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium à environ 0,5 mol/L.

– Détermination de la teneur en oxygène dissous.

– Remplissage d'un flacon d'incubation. Le flacon sera rempli totalement, sans bulles d'air, et bouché hermétiquement.

Les flacons sont ensuite placés dans une enceinte thermostatée à 20 °C pendant 5 jours.

Au bout de 5 jours, on dose à nouveau l'oxygène dissous dans chacun des flacons.

Essai Témoin

Trois flacons contenant uniquement l'eau de dilution seront traités de la même manière que les échantillons.

La consommation d'oxygène au cours des 5 jours d'incubation à 20 °C ne devrait pas excéder 0,5 mg/L.

■ Interprétation des résultats

Soit :

D_0 = Teneur en oxygène (mg/L) de l'eau de dilution au début de l'essai.

D_5 = Teneur moyenne en oxygène (mg/L) de l'eau de dilution au bout de cinq jours d'incubation.

T_0 = Teneur en oxygène (mg/L) de l'une des dilutions de l'échantillon au début de l'essai.

T_5 = Teneur en oxygène (mg/L) de l'une des dilutions de l'échantillon au bout de cinq jours d'incubation.

F = Facteur de dilution tel que :

$$0{,}4T_0 \leqslant T_0 - T_5 \leqslant 0{,}6T_0$$

La demande biochimique en oxygène exprimée en milligrammes d'oxygène par litre est égale à

$$DBO_5 = F(T_0 - T_5) - (F - 1)(D_0 - D_5)$$

Préciser éventuellement le traitement préalable effectué sur le prélèvement (décantation, filtration).

■ Périodes d'incubation alternatives

Pour éviter de travailler le week-end des périodes d'incubation alternatives ont été examinées.

Deux stratégies ont été étudiées :

– laisser incuber les DBO pendant 7 jours, ce qui donne DBO_7,

– placer les flacons à 4 °C pendant 2 jours, puis les mettre à incuber à 20 °C pendant les 5 jours suivants, ce qui donne une DBO_{2+5}.

Il n'a pas été mis en évidence de différences significatives entre la DBO_{2+5} et la DBO_5.

Quant à utiliser une DBO_7, il a été montré qu'il est possible pour une eau résiduaire urbaine de considérer un rapport DBO_7/DBO_5 égal à 1,08. Mais ce rapport est fonction de la matière organique présente et devra être réalisé pour chaque eau.

Remarques

– Les manipulations de remplissage, de transfert, d'homogénéisation peuvent conduire à des modifications de la teneur en oxygène du milieu. Il convient d'introduire la prise d'essai et d'homogénéiser en évitant la formation de bulles d'air.

– Pour l'aération de l'eau, utiliser de préférence de l'air filtré en provenance d'une bouteille d'air comprimé ou d'un compresseur à pompes à membranes pour éviter les entraînements d'huiles.

– La présence de germes bactériens est indispensable au bon déroulement de la méthode. Cependant, suivant le point d'origine de l'eau d'ensemencement, des variations peuvent atteindre 30 %. Dans une eau de surface peu diluée, il n'y aura que peu de problèmes, par contre, dans le cas d'eaux d'égouts urbains, la dilution pourra aboutir à une diminution excessive ; de même, dans certaines eaux naturelles, ils pourront être totalement absents. En principe, si l'échantillon provient d'eau d'égout urbain, l'ensemencement est inutile.

– Dans le cas de charges élevées qui nécessitent de grandes dilutions, la mesure n'a qu'une valeur limitée.

– En présence de teneurs élevées de chlore résiduel, il est utile de procéder à sa destruction par addition d'une solution de sulfite de sodium en quantité stoechiométrique.

Méthode de référence

NF EN 1899-1 (mai 1988). Qualité de l'eau. Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO_n). Partie 1 : Méthode par diffusion et ensemencement avec apport d'allyl thio-urée iIndice de classement : T90-103-1).

2.8.2 Méthode pour les échantillons non dilués

La détermination de la DBO sans dilution préalable est peu adaptée pour les eaux usées, elle a été développée pour les eaux naturelles (voir § A.9.3).

Cette méthode est applicable pour les échantillons dont la demande biochimique en oxygène est inférieure à 6 mg/L.

Méthode de référence

NF EN 1899-2 (mai 1988). Qualité de l'eau. Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO_n). Partie 1 : Méthode pour les échantillons non dilués (indice de classement : T90-103-2).

2.8.3 Méthodes respirométriques (dites manométriques)

■ Principe

La diminution de l'oxygène consommé lors de la biodégradation d'un échantillon provoque une diminution de pression mesurée à l'aide d'un manomètre.

Plusieurs types d'appareillages sont commercialisés pour la mesure de la DBO. Certains permettent d'enregistrer une dépression, c'est le système de Warburg ; d'autres enregistrent la quantité d'oxygène fournie pour rétablir au fur et à mesure des besoins la pression initiale d'oxygène : c'est le système respirométrique de Sierp.

L'échantillon d'eau introduit dans une enceinte thermostatée est mis à incuber en présence d'air. Les micro-organismes présents consomment l'oxygène dissous qui est remplacé en permanence par de l'oxygène en provenance du volume d'air situé au-dessus de l'échantillon. L'anhydride carbonique formé est piégé par de l'hydroxyde de potassium.

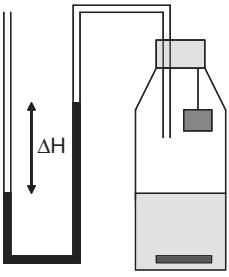
□ Matériel

RESPIROMÈTRES ADAPTÉS À LA DÉTERMINATION DE LA DBO

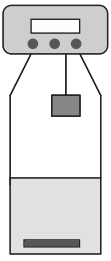
Les appareillages commercialisés sont de 2 types (voir schémas ci-dessous).

Les appareils les plus anciens comportent un tube manométrique qui sert à déterminer la dépression correspondant à la consommation d'oxygène. Les plus récents utilisent un bouchon équipé d'un capteur de pression qui garde automatiquement en mémoire les pressions aux temps 1, 2, 3, 4 et 5 jours.

Dans tous les cas, le flacon d'incubation est équipé d'un système d'agitation et d'une nacelle contenant de l'hydroxyde de potassium qui piège le dioxyde de carbone libéré lors de la biodégradation.



1re génération



2e génération

– flacons DBO adaptés au respiromètre utilisé,

– enceinte thermostatée à 20 °C ± 1 °C.

□ **Réactifs**

Dans le cas d'eaux résiduaires brutes ou traitées, l'ajout de nutriments ou de microorganismes n'est pas nécessaire. Il peut par contre être indispensable pour des effluents industriels. On se référera dans ce cas aux indications données dans la méthode par dilution (cf. § D-2.8.1) pour :

– le choix d'un inoculum bactérien pour ensemencement,

– la préparation d'une eau de dilution qui contiendra tous les nutriments nécessaires.

■ Mode opératoire

Pour la mise en œuvre de cette technique, il est important de suivre les consignes du fabricant du matériel choisi.

Le mode opératoire est généralement le suivant.

Le pH de l'échantillon doit être compris entre 6 et 8. Dans le cas contraire, il sera amené dans cette gamme à l'aide de solutions d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium à environ 0,5 mol/L.

Dans un flacon contenant un barreau magnétique, on introduit l'échantillon, contenant si nécessaire un ensemencement bactérien. Le volume introduit dans le flacon dépend de la $DB0_5$ mesurée et de l'appareillage utilisé.

Dans la nacelle à placer sur le flacon, on introduit 2 à 3 grains d'hydroxyde de potassium sur lesquels on ajoute 1 à 2 gouttes d'eau. (*Prendre toutes précautions pour que la solution ne déborde pas et ne risque pas de contaminer l'échantillon).*

On ferme ensuite hermétiquement le flacon.

Puis on met ce flacon à incuber à 20 °C pendant 5 jours sous agitation constante.

Suivre les instructions du fabricant pour l'acquisition des données.

Remarques

– Contrairement à la méthode par dilution, cette méthode instrumentale fournit des informations beaucoup plus complètes sur la biodégradation de l'échantillon. Elle permet en effet d'acquérir le tracé de la courbe DBO en fonction du temps (voir préambule du § D-2.8). Une éventuelle phase de latence en début de mesure pourra être mise en évidence. Celle-ci pourrait résulter d'un inoculum non adapté, d'une absence de nutriments (sels nutritifs) ou encore de la présence d'un inhibiteur.

– Si la présence d'un composé toxique est supposée dans un échantillon, on pourra diluer cet échantillon (par exemple avec de l'eau de dilution contenant des nutriments) dans le but de diminuer cet effet toxique et d'évaluer la biodégradabilité de la matière organique présente dans l'échantillon.

2.9 Demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène consommée par les matières existant dans l'eau et oxydables dans des conditions

opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présentes dans l'eau, quelle que soit leur origine organique ou minérale (fer ferreux, nitrites, ammonium, sulfures et chlorures). Ce test est particulièrement utile pour l'appréciation du fonctionnement des stations de traitement. La DCO étant fonction des caractéristiques des matières présentes, de leurs proportions respectives, des possibilités de l'oxydation, etc., il est bien évident que la reproductibilité des résultats et leur interprétation ne pourront être satisfaisantes que dans des conditions de méthodologie bien définies et strictement respectées. Dans la technique, le rôle du catalyseur est de faciliter l'oxydation mais celle-ci n'est cependant pas totale en présence de composés organiques stables (urée, pyridine, dérivés aromatiques, composés aliphatiques à longue chaîne carbonée).

Il est préférable d'effectuer les prèlèvements dans des récipients en verre, les flacons en matière plastique pouvant entraîner la présence de contaminants organiques. Pratiquer la détermination de la DCO très rapidement après le prélèvement qui doit être représentatif et homogénéisé. Cependant, on peut conserver un certain temps l'échantillon s'il a été acidifié par l'acide sulfurique à $pH < 2$.

La DCO totale comprend deux fractions, l'une étant soluble et l'autre particulaire. Lors des déterminations de DCO, il est d'usage de pratiquer l'analyse sur la fraction soluble. Celle-ci est obtenue en faisant décanter l'échantillon pendant une durée de 2 heures. L'échantillon pour analyse est alors prélevé dans la phase surnageante, par siphonage ou à l'aide d'une pipette, et la DCO mesurée est alors notée DCO_{ad2} (DCO après décantation de 2 heures). Mais pour des objectifs particuliers, il peut être indiqué de déterminer la DCO totale, sans décantation préalable.

2.9.1 Détermination de la DCO (méthode à reflux en système ouvert)

■ Principe

Dans des conditions définies, certaines matières contenues dans l'eau sont oxydées à l'ébullition (150 °C) par un excès de dichromate de potassium, en milieu acide et en présence de sulfate d'argent jouant le rôle de catalyseur d'oxydation et de sulfate de mercure (II) permettant de complexer les ions chlorure. L'excès de dichromate de potassium est dosé par le sulfate de fer et d'ammonium.

Les matières oxydables (et en particulier les matières organiques) de l'échantillon sont oxydées par le dichromate de potassium dans les conditions précitées.

Le dichromate de potassium est réduit :

$$Cr_2O_7^{2-} + 14\ H^+ + 6\ e^- \rightarrow 2\ Cr^{3+} + 7\ H_2O$$

Le dichromate de potassium résiduel est dosé par une solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium (donc de Fe^{2+}), en présence de ferroïne (indicateur d'oxydo-réduction) :

$$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^-$$

La réaction globale du dosage est la suivante :

$$Cr_2O_7^{2-} + 14\ H^+ + 6\ Fe^{2+} \rightarrow 2\ Cr^{3+} + 6\ Fe^{3+} + 7\ H_2O$$

Il est alors possible de déterminer la quantité de dichromate de potassium consommé lors de l'essai et d'en déduire la quantité d'oxygène équivalente.

On pourra déterminer :

– la DCO totale (matières dissoutes et en suspension) de l'échantillon (DCO_{totale}),

– la DCO dissoute, après décantation de l'échantillon pendant 2 heures (DCO_{ad2}).

Pour limiter l'interférence des chlorures, on ajoute du sulfate de mercure, qui conduit à la formation de chloromercurate (II), soluble et peu oxydable :

$$Hg^{2+} + 2\ Cl^- \rightarrow HgCl_2$$

☐ Matériel spécial

– Appareil à reflux composé d'une tube ou d'un ballon à fond plat de 250 mL à col rodé et d'un réfrigérant adaptable.

Le nettoyage de l'appareil est effectué en portant à l'ébullition sous reflux un mélange composé de 5 mL de solution de dichromate de potassium, 15 mL de solution d'acide sulfurique-sulfate d'argent et 10 mL d'eau.

– Plaque chauffante ou bloc chauffant adapté avec régulation de température.

– Régulateur d'ébullition.

☐ Réactifs

– Acide sulfurique (d = 1,84).

– Solution d'acide sulfurique à 4 mol/L :

acide sulfurique (d = 1,84)	220 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Verser l'acide sulfurique dans de l'eau. Après refroidissement, compléter le volume à 1 L.

– Solution de sulfate d'argent à 10 g/L dans l'acide sulfurique :

sulfate d'argent cristallisé (Ag_2SO_4)	10 g
acide sulfurique (d = 1,84)	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le sulfate d'argent dans 40 mL d'eau déionisée, ajouter 960 mL d'acide sulfurique avec précaution.

Des solutions prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce.

– Solution de sulfate de fer et d'ammonium à 0,12 mol/L :

sulfate de fer (II) et d'ammonium $FeSO_4(NH_4)_2SO_4$, $6H_2O$	47,0 g
acide sulfurique (d = 1,84)	20 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre le sulfate de fer et d'ammonium dans de l'eau, ajouter l'acide sulfurique. Après refroidissement, ajuster le volume à 1 L.

Le titre de cette solution doit être vérifié tous les jours.

– Solution de ferroïne :

1,10-phénanthroline		1,5 g
sulfate de fer (II) $FeSO_4$, $7H_2O$		0,7 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Dissoudre la phénanthroline et le sulfate de fer dans de l'eau et compléter le volume. On peut également utiliser une solution commerciale.

– Solution étalon de dichromate de potassium à 0,04 mol/L, contenant du sulfate de mercure (II) :

sulfate de mercure (II)		80 g
acide sulfurique (d = 1,83)		100 mL
dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$		11,767 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Dissoudre 80 g de sulfate de mercure (II) dans environ 800 mL d'eau déionisée. Ajouter avec précaution 100 mL. Laisser refroidir puis ajouter 11,767 g de dichromate de potassium (préalablement séché à 105 °C pendant 2 heures). Transvaser la solution quantitativement dans une fiole jaugée de 1 000 mL et compléter au volume.

Cette solution est stable environ 1 mois.

– solution de référence : sel tétrasodique de l'acide tétrasulfonique-phtalocyanine de cuivre (II) possédant une DCO égale à 100 mg/L d'oxygène :

sel tétrasodique de l'acide tétrasulfonique-phtalocyanine de cuivre (II)		
($C_{32}H_{12}CuN_8Na_4O_{12}S_4$)		0,666 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Diluer cette solution au 1/10e avec de l'eau déionisée.

Cette solution à 0,066 g/L présente une DCO théorique de 100 mg/L. Conservée à 4 °C, elle reste stable pendant environ 3 mois.

□ **Vérification de la concentration de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium**

Dans un bécher, mettre 5 mL de solution étalon de dichromate de potassium à 0,04 mol/L. Ajouter environ 100 mL avec la solution d'acide sulfurique à 4 mol/L. Titrer avec la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium avec quelques gouttes de solution de ferroïne et déterminer la quantité nécessaire de sulfate de fer et d'ammonium pour obtenir le virage au rouge.

La concentration C (en mol/L) de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium est donnée par la formule ci-dessous où les volumes sont exprimés en mL :

$$C_{(mol/L)} = \frac{V_{dichromate} \times 0{,}04}{V_{sulfate\ de\ fer}} \times 6 = \frac{1{,}2}{V_{sulfate\ de\ fer}}$$

■ Mode opératoire

Les opérateurs doivent être informés des risques inhérents à la manipulation de solutions concentrées d'acide sulfurique et de réactifs oxydants à température élevée (ébullition du mélange, soit environ 150 °C). Toutes les précautions nécessaires doivent en conséquence être prises.

Analyse de l'échantillon

Dans un tube de réaction introduire 10,0 mL d'échantillon. Si la DCO de l'échantillon est supérieure à 800 mg/L O_2, une dilution appropriée devra être réalisée.

Ajouter 5,00 mL de la solution de dichromate de potassium (0,040 mol/L).

Ajouter, lentement et avec précaution, 15 mL de la solution d'acide sulfurique contenant le sulfate d'argent, en agitant soigneusement le tube.

Mettre 1 à 2 gouttes d'acide sulfurique sur le col rodé du tube pour le lubrifier et relier le réfrigérant au tube de réaction. S'assurer que le réfrigérant tourne facilement dans le rodage du tube (sinon ajouter une goutte d'acide supplémentaire).

Placer le tube dans le bloc chauffant et porter à ébullition (150 °C ± 5 °C) pendant 2 heures.

Arrêter le chauffage.

Retirer les tubes avec leurs réfrigérants. Les laisser refroidir, puis rincer avec précaution le réfrigérant en recueillant les eaux de lavage dans le tube de réaction.

Ôter le réfrigérant.

Transvaser le contenu du tube dans un erlenmeyer de 250 mL, rincer et diluer avec environ 75 mL d'eau.

Ajouter 2 à 3 gouttes de ferroïne et titrer avec la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium.

Essai à blanc

Procéder de la même manière en remplaçant l'échantillon par 10,0 mL d'eau déionisée.

La consommation de dichromate de potassium lors de cet essai doit être très faible et ne pas excéder 0,5 mL. Des valeurs plus élevées peuvent trouver leur origine dans une propreté insuffisante de la verrerie ou dans des erreurs de concentrations des réactifs.

Essai témoin avec la solution de référence

Procéder de la même manière en remplaçant l'échantillon par 10,0 mL de la solution de référence à 0,066 g/L. On doit obtenir pour cette solution une DCO égale à 100 ± 18 mg/L d'oxygène.

■ Expression des résultats

La demande chimique en oxygène (DCO) exprimée en milligrammes d'oxygène par litre est égale à :

$$\frac{8\,000(V_0 - V_1)T}{V}$$

V_0 = Volume de sulfate de fer et d'ammonium (II) nécessaire au dosage (mL).

V_1 = Volume de sulfate de fer et d'ammonium (II) nécessaire à l'essai à blanc (mL).

T = Titre de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium (en mol/L).

V = Volume de la prise d'essai (en mL).

Si nécessaire, tenir compte pour ce calcul de la dilution pratiquée sur l'échantillon.

Préciser le traitement préalable éventuel (décantation ou éventuellement filtration).

Remarques

– En présence de quantités importantes de chlorures, on peut effectuer une dilution de l'échantillon au 1/10 ou au 1/100 si la quantité de matière réductrice le permet.

– Prendre toutes les précautions utiles pour éliminer l'introduction de matières organiques provenant de la verrerie, de l'eau permutée, de l'atmosphère.

– Les dimensions et la forme du réfrigérant ainsi que l'ébullition doivent être telles que la condensation des vapeurs se fasse au niveau inférieur du réfrigérant. On limite ainsi la perte de matière organique volatile.

– Les rodages du réfrigérant et du ballon doivent être exempts de tout corps gras ; ils peuvent être graissés par 1 ou 2 gouttes d'acide sulfurique.

– La méthode est très satisfaisante pour des DCO supérieures à 50 mg/L et des teneurs en chlorures (exprimées en Cl) inférieures à 1,5 g/L.

– Si la DCO est supérieure à 700 mg/L, procéder à une dilution avec de l'eau permutée.

– Si la teneur en chlorures est supérieure à 1,5 g/L, augmenter la quantité de sulfate de mercure pour garder un rapport $HgSO_4$/Cl voisin de 10. De toute façon, la DCO obtenue augmente avec la teneur en chlorures, et la complexation n'est pas satisfaisante pour les concentrations élevées rencontrées dans les rejets industriels et l'eau de mer. En fait, la méthode n'est applicable que pour des eaux dont la teneur en chlorures (exprimée en Cl^-) est inférieure à 3 g/L.

– Si les nitrites gênent le dosage ajouter 10 mg d'acide sulfamique par mg de nitrites.

– La méthode permet d'oxyder de nombreux composés organiques à 95 %. Cependant, certains d'entre eux, très volatils, peuvent s'éliminer au moment de l'addition d'acide sulfurique et du chauffage. D'autres ne sont que partiellement oxydés (méthionine, acides citrique et lactique, etc.), ou très peu (pyridine, purine, pyrimidine, ainsi que d'une façon générale, les fonctions amines ou amides).

– Le dosage titrimétrique (d'oxydoréduction) décrit dans cette méthode peut être remplacé par un dosage potentiométrique en utilisant un couple d'électrodes platine/calomel.

– Cette méthode utilise des solutions acides concentrées à haute température, ce qui nécessite la mise en œuvre de précautions spécifiques et une vigilance particulière.

– Les effluents résultant de ce dosage doivent faire l'objet d'un stockage en vue d'une détoxication, car ils contiennent des composés toxiques (Cr, Ag, Hg) en milieu acide.

Méthode de référence

NF T90-101 (février 2001). Qualité de l'eau – Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO) (Indice de classement : T90-101).

2.9.2 Indice DCO ou méthode ST-DCO (méthode à petite échelle en tube fermé)

■ Principe

La méthode décrite dans ce paragraphe utilise le même principe que la méthode précédente : oxydation de l'échantillon par le dichromate de potassium en présence d'acide sulfurique, de sulfate d'argent (catalyseur) et de sulfate de mercure (II) (complexant des ions chlorure (cf. § D-2.9.1).

Pour la différencier de la méthode classique en système ouvert, cette méthode est connue sous le nom de méthode ST-DCO.

L'originalité de cette méthode repose :

– sur l'utilisation de tubes fermés prêts à l'emploi. Ils contiennent tous les réactifs nécessaires et il suffit d'introduire un volume précis d'échantillon,

– sur le dosage spectrométrique de l'oxydant consommé. On utilise la propriété d'absorber à 600 nm que possède le Cr^{3+} (formé lors de l'oxydation de la matière organique de l'échantillon, par réduction du dichromate de potassium).

□ Appareillage

Il s'agit de kits commerciaux dédiés à la détermination de la DCO par la méthode à petite échelle en tubes fermés, qui se composent :

– de tubes de digestion en verre borosilicaté équipé de bouchons revêtus intérieurement d'un joint en Teflon. D'un volume total d'environ 20 mL, ils doivent être résistants aux acides et aux pressions élevées et adaptés au bloc chauffant utilisé,

– d'un bloc chauffant compact acceptant au moins 10 tubes, capable de maintenir une température uniforme de 150 °C ± 5 °C et dont les orifices permettent un contact étroit avec les tubes. Il est recommandé que ce système de chauffage permette d'atteindre le point d'ébullition en moins de 10 minutes,

– d'un détecteur photométrique, capable de mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 600 nm (± 20 nm). Pour limiter les risques liés à la manipulation de produits chimiques dangereux, il est recommandé que ce détecteur accepte directement les tubes à essais qui ont servi à l'oxydation.

□ Réactifs

– Les tubes de digestion disponibles dans le commerce contiennent de l'acide sulfurique, du dichromate de potassium, du sulfate d'argent et du chlorure de mercure (II). Les quantités de réactifs sont divisés par 5 par rapport à la méthode DCO traditionnelle et des kits sont disponibles dans différentes gammes de mesure, avec par exemple une gamme basse entre 0 et 150 mg/L et des gammes plus élevées permettant de mesurer des DCO allant jusqu'à 1 000 à 1 500 mg/L d'O_2.

Il est également possible de préparer ces tubes en laboratoire (voir remarques).

– Solution de référence :

Pour étalonner l'appareillage, on pourra utiliser comme dans la méthode précédente (§ 2.9.1) une solution du sel tétrasodique de l'acide tétrasulfonique-phtalocyanine de cuivre (II) possédant une DCO égale à 100 mg/L d'oxygène.

La solution de référence peut être préparée avec de l'hydrogénophtalate de potassium. Une solution d'hydrogénophtalate de potassium à 850,2 mg/L présente une DCO de 1 000 mg/L.

■ Mode opératoire

Suivre les consignes du fabricant de matériel.

Dans le cas le plus général les tubes disponibles contiennent 2,50 mL (± 0,01 mL) de la solution d'acide sulfurique (avec sulfate d'argent) et 0,5 mL (± 0,01 mL) de la solution de dichromate de potassium (voir exemple de composition en remarque).

Le volume d'échantillon ajouté dans ces tubes est alors de 2,00 mL (± 0,02 mL).

On procédera comme suit :

– ouvrir le tube contenant les réactifs. L'agiter avec précaution puis introduire 2,00 mL (± 0,02 mL) d'échantillon,

– refermer le bouchon fermement,

– essuyer soigneusement l'extérieur du tube,

– placer le tube dans le bloc chauffant et porter à ébullition (150 °C) pendant 2 heures (± 10 minutes),

– enlever les tubes du bloc chauffant et les mettre à refroidir,

– mélanger le contenu avec précautions,

– effectuer la mesure d'absorbance au spectromètre à 600 nm.

Étalonnage de l'appareil

À partir d'une solution de référence dont la DCO est connue (voir réactifs), procéder à des dilutions pour obtenir 5 à 6 solutions étalons dans la gamme de concentration souhaitée.

Procéder sur ces solutions étalon comme indiqué dans le mode opératoire ci-dessus. Après oxydation et refroidissement, l'absorbance sera mesurée dans chaque tube et on tracera la courbe d'étalonnage (Absorbance en fonction de la DCO).

NB : dans la majorité des cas, on dispose d'appareils pré-étalonnés dans les différentes gammes souhaitées et les gammes d'étalonnage du constructeur sont fournies (ou directement entrées dans la mémoire de l'appareil). Des vérifications régulières sont cependant nécessaires pour assurer la fiabilité des résultats.

Expression des résultats

En se référant à la courbe d'étalonnage de l'appareil, exprimer la ST-DCO de l'échantillon en mg/L d'oxygène.

Remarques

– Cette méthode est particulièrement bien adaptée aux déterminations sur le terrain. Mais elle peut aussi s'utiliser lorsqu'un grand nombre d'analyses doit être réalisé.

– Si l'absorbance est trop élevée, on recommencera la manipulation en diluant l'échantillon.

– Le faible volume d'échantillon utilisé (2 mL) nécessite de prendre de prendre toutes les précautions nécessaires pour assurer la représentativité de cet échantillon. On travaillera donc de préférence sur des échantillons décantés pendant 2 heures (ST-DCO_{ad2}).

– si les échantillons présentent une turbidité après les 2 heures de digestion, il convient de mettre en place un dosage titrimétrique (cf méthode D.2.9.1).

– la méthode ST-DCO utilise moins de réactifs que la méthode DCO traditionnelle. Elle s'avère donc moins polluante.

– pour préparer en laboratoire des tubes contenant le mélange réactionnel dans la gamme de mesure de 0 à 1 000 mg/L, on introduira successivement avec précautions :

• 0,50 mL ± 0,01 mL d'une solution de dichromate de potassium à 0,1 mol/L,

• 0,20 mL ± 0,01 mL d'une solution de sulfate de mercure (II) à une concentration de 1,35 mol/L,

• 2,50 mL ± 0,01 mL d'une solution de sulfate d'argent à 12 g/L dans de l'acide sulfurique concentré (d = 1,83).

Après avoir agité avec précautions, les tubes seront fermés puis stockés. Ils pourront être conservés pendant environ 1 an à l'obscurité.

– les échantillons contenant de faibles teneurs en matières organiques et donc ayant une DCO faible pourront être analysés plus précisément, toujours par colorimétrie, mais en mesurant la couleur jaune du chrome (VI) résiduel (dichromate de potassium non consommé pour l'oxydation) et non plus la couleur verte du chrome (III) formé par réduction. Le Cr (VI) absorbe à 440 nm, alors que le Cr (III) est dosé à 600 nm.

Méthode de référence

ISO 15705 (novembre 2002). Qualité de l'eau – Détermination de l'indice de demande chimique en oxygène (ST-DCO) – Méthode à petite échelle en tube fermé.

2.10 Carbone organique total (COT)

La détermination du carbone organique par oxydation thermique catalysée ou par photooxydation porte sur l'ensemble des composés organiques (naturels ou de synthèse) présents dans les eaux résiduaires. Suivant que l'eau a été préalablement filtrée ou non, on obtiendra le carbone organique dissous (COD) ou le carbone organiques total (COT). Cette mesure peut permettre de faciliter l'estimation de la demande en oxygène liée aux rejets et d'établir éventuellement une corrélation avec le DBO et la DCO.

Le principe de la mesure repose sur l'oxydation des composés carbonés contenus dans les eaux en les transformant en dioxyde de carbone (CO_2) qui est ensuite dosé à l'aide d'un analyseur infrarouge. Le carbone d'origine inorganique étant éliminé préalablement par dégazage en milieu acide, la détermination conduit directement à la teneur en carbone organique de l'échantillon.

Cette méthode est décrite dans la partie A consacrée aux eaux naturelles (§ A-9.4).

2.11 Demande totale en oxygène (DTO)

La demande totale en oxygène mesure la consommation d'oxygène suivant les réactions chimiques suivantes, développées par la combustion catalytique

$$C + O_2 \rightarrow CO_2$$
$$H_2 + 1/2\ O_2 \rightarrow H_2O$$
$$N + 1/2\ O_2 \rightarrow NO$$

Dans les mêmes conditions, les composés soufrés sont oxydés en SO_2 et SO_3 dans un rapport fixe.

L'intérêt de cette méthode réside dans l'obtention rapide des résultats mais nécessite un appareillage spécialisé. Si la faible quantité utilisée pour l'analyse présente un avantage, elle a aussi l'inconvénient de la représentativité du prélèvement, d'où la nécessité de multiplier les mesures. La DTO est très rarement mesurée dans la pratique courante ; quelques laboratoires de recherche peuvent encore l'utiliser. Le principe consiste à oxyder complètement à 900 °C les matières oxydables en présence d'une quantité connue d'oxygène. Les variations de la pression partielle en oxygène sont suivies par une cellule électrolytique spécifique.

2.12 Oxydabilité au permanganate de potassium

Bien que pratiquement plus utilisée, l'oxydabilité au permanganate de potassium peut être considérée comme une méthode de terrain pour évaluer les performances des procédés d'épuration des eaux résiduaires.

Se reporter au § A-9.1 (Indice permanganate).

2.13 Azote

Pour évaluer l'azote dans les eaux résiduaires et pour suivre son évolution dans les réseaux et lors de l'épuration, il est indispensable de doser ses différentes formes minérales ou inorganiques :

– azote ammoniacal ou $N\text{-}NH_4^+$,
– azote nitreux ou $N\text{-}NO_2^-$,
– azote nitrique ou $N\text{-}NO_3^-$,

et organique ou N_{org}.

L'azote global (ou total) est alors défini par :

$$NGL = N_{total} = N_{organique} + N_{minéral} = N_{organique} + N\text{-}NH_4^+ + N\text{-}NO_2^- + N\text{-}NO_3^-$$

Les méthodes développées à ce jour ne permettent pas de déterminer directement et spécifiquement l'azote organique présent dans les eaux. Ainsi, le dosage de l'azote Kjeldahl (NK), qui fait appel à une minéralisa-

tion de l'échantillon en présence d'un catalyseur au sélénium, permet de déterminer les composés non oxydés de l'azote :

$$NK = N_{organique} + N\text{-}NH_4^+ = \text{azote réduit}$$

Mais la méthode Kjeldahl ne permet pas d'accéder à la totalité de l'azote organique et de nombreux composés organiques ne sont pas dosés ou sont partiellement dosés (composés nitrés, nitrosés, oximes, hydrazine et dérivés, hétérocycles azotés…)

La teneur en azote total (NT ou NGL) d'une eau peut encore être approchée par une méthode mettant en œuvre une minéralisation oxydante par le peroxodisulfate. Mais dans ce cas encore, tous les composés organiques azotés ne sont pas convertis en nitrates lors de l'oxydation.

Une troisième méthode fait appel à une oxydation en oxydes d'azote par combustion catalytique. Avec cette méthode, l'oxydation des composés organiques est globalement plus importante, sans toutefois être quantitative.

Dans tous les cas, si l'on souhaite accéder à la teneur en azote organique, il sera nécessaire de quantifier séparément l'azote ammoniacal (pour le NK), ainsi que l'azote de nitrites et des nitrates (pour les 2 autres méthodes).

2.13.1 Azote Kjeldahl

Cette méthode permet la transformation en ammonium des composés d'origine biologique (protéines, peptides, acides aminés) mais non celle des composés azotés d'origine industrielle (oximes, hydrazine et dérivés, semi-carbazone, etc.). Il en est de même pour l'azote des nitrites et des nitrates. L'azote Kjeldahl correspond à la somme des composés organiques aminés et de l'ammonium, l'azote organique s'obtient par différence.

Effectuer le dosage le plus tôt possible après le prélèvement ou conserver celui-ci à 4 °C après addition d'acide sulfurique (*q.s.p.* pH < 2).

Pour le mode opératoire, se reporter au dosage dans les eaux naturelles (A-9.6.1).

2.13.2 Azote minéral ou inorganique

Se reporter aux méthodes décrites pour les eaux naturelles (A-7.3, A-7.38, A-7.39), tout en tenant compte que dans les eaux résiduaires la présence de substances interférentes à des teneurs élevées peut gêner les dosages. D'une façon générale, étant donné l'intense activité biologique qui peut exister dans les échantillons, il y a lieu de pratiquer les mesures le plus rapidement possible. Cependant, il est possible d'assurer une certaine conservation des prélèvements après acidification à pH 2-3 par de l'acide sulfurique, à la température de 4 °C.

2.13.3 Azote total et organique

Pour évaluer l'azote total et organique deux méthodes sont possibles :

– azote par minéralisation au peroxodisulfate (cf. § A-9.6.2),

– azote après oxydation en oxydes d'azote (cf. § A-6.9.3).

2.14 Phosphore

Dans les eaux résiduaires, le phosphore peut se rencontrer sous forme de sels minéraux (orthophosphates, polyphosphates) mais aussi sous forme de composés organiques. Ces différents composés sont soit solubilisés, soit fixés sur les matières en suspension. Ils pourront donc être dosés sur l'échantillon total et sur la phase soluble après séparation du phosphore insoluble par filtration sur membrane 0,45 μm.

D'une façon générale, l'analyse est à pratiquer de préférence le jour même du prélèvement. Si une différenciation des formes du phosphore est envisagée, effectuer la filtration immédiatement après avoir prélevé l'échantillon. Toutefois, l'échantillon peut être conservé à 4 °C après addition d'acide sulfurique (*q.s.p.* $pH < 2$).

Les orthophosphates sont dosés directement sur l'échantillon total ou sur la phase soluble par l'une des méthodes indiquées pour les eaux naturelles (A-7.40). Les polyphosphates sont dosés après hydrolyse en milieu acide selon la méthode indiquée pour les eaux naturelles (A-9.7.1), soit sur l'échantillon total, soit sur la phase soluble. Cependant, quelques composés organiques susceptibles d'être décomposés au cours de l'hydrolyse acide peuvent être dosés avec les polyphosphates.

Les composés phosphorés d'origine organique dans l'échantillon total et dans la phase soluble sont obtenus par différence entre le phosphore total et la somme du phosphore des orthophosphates et des polyphosphates. Le phosphore total est dosé après minéralisation du prélèvement obtenue selon le mode opératoire ci-après.

2.15 Test de putrescibilité au bleu de méthylène

Pour plus d'informations sur cette méthode, reportez-vous aux suppléments en ligne (www.dunod.com).

2.16 Biodégradabilité des eaux usées

2.16.1 Méthode utilisant les paramètres globaux DCO et DBO

Évaluer l'aptitude d'une eau usée à se biodégrader présente un intérêt primordial pour le traitement des eaux résiduaires. C'est en effet cette plus ou moins grande aptitude à la biodégradation qui va conditionner le choix du procédé de traitement (traitement de type biologique ou physico-chimique).

La combinaison des 2 paramètres globaux de pollution DCO et DBO_5 permet une bonne approche de la biodégradabilité, la DCO représentant la matière organique dans sa globalité et la DBO la seule fraction biodégradable dans des conditions fixées. Ces 2 paramètres globaux de pollution

étant, rappelons-le exprimés dans le même système d'unités, à savoir la quantité d'oxygène consommé (mg/L d'oxygène).

La DBO_5 représente la quantité de matières organiques présentes dans l'échantillon et qui se sont dégradées en 5 jours. Si l'on poursuit la biodégradation pendant une période plus longue (une vingtaine de jours pour une eau résiduaire urbaine), on aboutit à un palier (cf. § D-2.8), qui correspond à la DBO ultime.

Si toutes les matières organiques de l'échantillon étaient biodégradables on devrait avoir :

$$\text{DBO ultime} = \text{DCO}$$

C'est par exemple ce qui est constaté sur une molécule simple facilement biodégradable, le glucose, dont la DBO ultime équivaut à la valeur mesurée de la DCO.

De nombreuses molécules organiques présentes dans les eaux résiduaires ne sont cependant pas biodégradables ou le sont très lentement. Dans ce cas on observe :

$$\text{DCO} > \text{DBO ultime}$$

Sachant que la DBO mesurée au bout de 5 jours (DBO_5) ne représente qu'une partie de la DBO totale (ou DBO ultime), l'utilisation du rapport DCO/DBO ou plus exactement du rapport DCO/DBO_5 (pour rester sur les paramètres mesurés) permet donc de se faire une idée réaliste de la biodégradabilité d'un effluent.

Dans le cas d'une eau résiduaire urbaine qui contient une majorité de composés organiques biodégradables, on considère que la DBO ultime représente environ 80 à 90 % de la DCO et le rapport DCO/DBO_5 est généralement compris entre 1,5 et 2,5.

Pour les effluents industriels, qui peuvent contenir une fraction notable de composés non biodégradables, on pourra considérer selon le rapport DCO/DBO_5 que l'aptitude à la biodégradation est plus ou moins favorable à un traitement biologique, les règles suivantes étant généralement retenues :

- $DCO/DB0_5 < 3$ effluent facilement biodégradable
- $3 < DCO/DB0_5 < 5$ effluent moyennement biodégradable
- $DCO/DB0_5 > 5$ effluent difficilement biodégradable, voire non biodégradable

Cet indice de biodégradabilité (DCO/DBO_5) s'avère également très utile pour le suivi de l'efficacité de traitements biologiques, le rapport augmentant d'autant plus que le traitement biologique est plus poussé.

2.16.2 Essai de simulation de boues activées

Estimer la biodégradabilité d'un effluent a le plus souvent pour objectif d'évaluer son aptitude à subir un traitement par voie biologique. Partant de ce constat, des tests de biodégradabilité se sont développés, utilisant une installation de laboratoire sur le principe du traitement biologique par boues activées.

Cette méthode est applicable à des composés organiques, mais elle peut s'utiliser pour mesurer la biodégradation et l'élimination de la matière organique des eaux usées.

Principe

Dans un simulateur de traitement biologique par boues activées alimenté par une eau usée domestique, on introduit en continu ou de manière séquencée l'effluent dont on souhaite connaître l'aptitude à la biodégradation.

Une unité témoin alimentée uniquement avec l'effluent urbain fonctionne en parallèle, dans les mêmes conditions expérimentales.

La comparaison des teneurs en matières organiques (déterminées par le paramètre carbone organique dissous) en entrée et en sortie de réacteur, par rapport à un réacteur témoin alimenté uniquement avec l'effluent urbain, permet de connaître le taux d'élimination (biodégradation) de l'effluent étudié.

L'inoculum bactérien introduit dans le réacteur à son démarrage est constitué d'une boue urbaine fraîche, prélevée dans le bassin d'aération d'une usine de traitement biologique d'eaux usées domestiques.

Plusieurs méthodes utilisant ce principe ont été développées. Leurs différences majeures concernent le matériel utilisé.

La durée proposée pour les essais dans les méthodes standardisées est d'environ 4 semaines pour le réacteur statique et peut aller jusqu'à 12 à 24 semaines pour les méthodes utilisant les réacteurs à alimentation continue ou séquencée, et selon le temps nécessaire pour que la biomasse initiale s'adapte à la biodégradation de l'effluent.

Pour simplifier l'essai et le standardiser, on pourra utiliser un effluent urbain synthétique à la place de l'eau usée domestique. Si l'on utilise l'eau usée urbaine, la prélever en sortie de décanteur primaire.

Matériel

SIMULATEURS DE BOUES ACTIVÉES

Réacteurs de type « boues activées » alimentés en continu :

Pour réaliser cette expérimentation, on pourra utiliser des unités pilotes de boues activées telles que décrites sur le schéma ci-dessous.

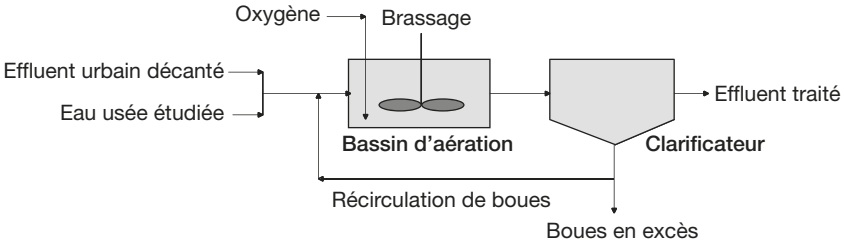


Schéma d'une unité pilote de boues activées

Ce réacteur permet à l'aide des pompes adaptées de réaliser un essai avec une alimentation continue ou séquencée. Ensemencé avec une boue prélevée dans une station

d'épuration urbaine fonctionnant en mode biologique, ce réacteur est au départ alimenté uniquement avec de l'eau résiduaire urbaine. L'eau à étudier est introduite progressivement, en mélange avec l'eau résiduaire urbaine, dans des proportions qui dépendent de l'effluent industriel concerné.

Essais en colonnes alimentées en discontinu :

En l'absence d'un tel système, un appareillage plus simple pourra être constitué d'une colonne en verre d'un diamètre de 5 à 10 cm, munie de 3 tubulures : 2 à la base et une en hauteur. Les 2 tubulures en position basse sont destinées, pour l'une à l'arrivée d'oxygène (ou d'air) et pour l'autre au soutirage des boues en excès. Concernant la tubulure en position haute, elle servira à soutirer le surnageant de décantation. Les unités de ce type sont le plus souvent alimentées en discontinu, d'où leur nom d'unités SCAS (semi-continuous activated sludge).

Essais en statique :

On utilisera des flacons en verre de 2 à 5 litres, équipés d'un système d'agitation et d'un tube plongeant pour l'alimentation continue en air. Le mélange des eaux usées (eau à expérimenter et eau domestique) est introduit au temps initial dans le flacon en présence d'un volume suffisant de boues urbaines fraîches et aucun apport complémentaire de matière organique n'est réalisé au cours de l'essai de 28 jours.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE

– analyseur de carbone organique dissous,

– dispositifs de filtration (membranes en fibre de verre de 0,2 à 0,45 μm) ou centrifugeuse,

– pHmètre.

☐ Réactifs

– Eau usée synthétique, solution mère :

Peptone		16 g
Extrait de viande (ou peptone/extrait de viande		11 g 27 g)
Urée		3 g
Chlorure de sodium (NaCl)		700 mg
Chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2$, $2H_2O$)		400 mg
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$, $7H_2O$)		200 mg
Di-potassium hydrogénophosphate (KH_2PO_4)		2,8 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

Conservée à 4 °C, cette solution peut être conservée environ une semaine.

– Eau usée synthétique, solution fille :

Diluer au 1/100e la solution mère précédente dans de l'eau déionisée et conserver à 4 °C et l'utiliser dans un délai de 24 heures.

■ Mode opératoire

Contrôler le pH de l'eau usée étudiée et l'ajuster entre 6 et 8 si nécessaire.

Prélever une boue urbaine fraîche. La laisser décanter quelques minutes, puis éliminer le surnageant. Déterminer les MES.

Introduire dans chaque réacteur un volume de boue urbaine fraîche pour que la concentration finale en MES soit d'environ 3 à 4 g/L. Mettre en place l'agitation et l'ajout d'air.

Mettre en route les réacteurs en les alimentant uniquement avec l'eau usée domestique (réelle ou synthétique) pendant environ 10 jours. Analyser quotidiennement le COD en entrée et en sortie de réacteur (sur un échantillon préalablement filtré ou centrifugé).

Alimenter ensuite le réacteur avec l'effluent mixte (eau usée domestique + eau usée étudiée) dans une proportion qui peut être de 50/50 ou moins si l'effluent étudié peut présenter un risque inhibiteur vis-à-vis de la flore bactérienne.

Analyser le COD en entrée et en sortie de réacteur au moins 3 fois par semaine, jusqu'à ce qu'à l'obtention de valeurs identiques sur plusieurs prélèvements consécutifs.

Si la biodégradation ne semble pas s'installer, il est possible que l'effluent présente un effet inhibiteur. On pourra recommencer l'essai avec une proportion moindre de l'eau usée étudiée.

Remarques

– Si l'on utilise comme réacteur la colonne décrite dans la partie matériel, chaque prélèvement devra être précédé d'un arrêt de l'aération pour permettre une décantation avant soutirage de l'échantillon.

– Pour contrôler la fiabilité des résultats obtenus, il peut être utile d'effectuer un essai sur un composé de référence, par exemple du glucose.

Méthodes de référence

NF EN ISO 9887 (février 1995). Qualité de l'eau – Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégrabilité aérobie des composés organiques. Méthode semi-continue par boues activées (méthode SCAS).

NF EN ISO 9888 (septembre 1999). Qualité de l'eau – Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques – Essai statique (méthode Zahn-Wellens) (Indice de classement : T90-316).

ISO 11733 : 2004. Qualité de l'eau – Détermination de l'élimination et de la biodégradabilité des composés organiques en milieu aqueux. Essai de simulation de boues activées.

2.17 Matières oxydables

Défini par les agences de l'eau pour une évaluation globale d'une pollution organique des eaux usées dans un objectif de taxe à la pollution, le terme « matières oxydables » (MO) correspond à une moyenne pondérée des 2 paramètres globaux DCO et DBO_5, en attribuant un coefficient double à la DBO_5 :

$$MO = \frac{DCO + 2\ DBO_5}{3}$$

Par convention les 2 paramètres DCO et DBO ont été mesurés après une décantation de 2 heures des effluents (DCO_{ad2} et DBO_{5ad2}), selon les méthodes décrites respectivement aux paragraphes D-2.8 et D-2.9.

Comme la DCO et la DBO, les matières oxydables s'expriment en g/L (ou en mg/L) d'oxygène.

Dans les effluents urbains, les matières oxydables représentent une charge polluante importante et elles sont prises en compte dans la définition de l'équivalent habitant (cf. § D-1.3). Mais ce paramètre s'avère également très utile pour évaluer la charge polluante d'établissements industriels et, selon la branche d'activité, il permet d'étudier les possibilités de raccordement de cet établissement industriel à un réseau d'assainissement communal.

2.18 Métox

Le métox (abréviation de **mé**taux **tox**iques) désigne un indice destiné à quantifier globalement les pollutions toxiques associées à la présence dans les eaux de certains métaux et métalloïdes.

Établi par les Agences de l'Eau pour fixer les redevances de pollution applicables aux établissements pollueurs (principalement industriels), le métox permet d'exprimer la pollution toxique chronique et subaiguë d'effluents aqueux. Il est également adapté aux eaux douces superficielles, aux eaux saumâtres et aux eaux salées.

Le METOX est calculé en faisant la somme pondérée (exprimée en g/l) de huit métaux et métalloïdes, la concentration de chacun d'entre eux étant affectée d'un coefficient de pondération. Définis sur la base d'études scientifiques (tests biologiques), ces coefficients de pondération sont d'autant plus élevés que la toxicité à long terme de l'élément considéré est importante.

Les 8 métaux (ou métalloïdes) retenus et leurs coefficients de pondération sont les suivants :

Métaux et métalloïdes retenus	Coefficients de pondération
Arsenic	10
Cadmium	50
Chrome	1
Cuivre	5
Mercure	50
Nickel	5
Plomb	10
Zinc	1

Le métox peut s'exprimer en unité pondérale (g/L) mais il sert le plus souvent à exprimer des flux de pollution en faisant la somme moyenne par unité de temps (généralement la journée) de la masse d'éléments présents

dans l'effluent analysé, chaque masse étant multipliée par les coefficients respectifs définis ci-dessus. Le métox s'exprimera alors en g/j.

Ainsi le flux de métox rejeté chaque jour par un habitant ou équivalent habitant (cf § D.1.3) correspond à 0,23 g/j par habitant.

2.19 Matières inhibitrices

Le terme « matières inhibitrices » (MI) désigne l'ensemble des polluants des eaux (minéraux ou organiques) possédant une toxicité susceptible d'inhiber le développement et/ou l'activité de certains organismes aquatiques.

Perturbant les écosystèmes aquatiques, ces diverses substances toxiques (pesticides, hydrocarbures, métaux, huiles, organochlorés…) posent également des problèmes dans les stations d'épuration en empêchant la croissance des microorganismes qui assurent l'épuration biologique des eaux.

Par convention, il a été choisi pour ces matières inhibitrices :

– d'en estimer la teneur à l'aide d'un paramètre unique : l'inhibition de la mobilité des daphnies, qui permet d'évaluer la toxicité aiguë des matières inhibitrices présentes dans l'échantillon (cf. § C-4.5),

– d'utiliser une unité de mesure qui est l'équitox (abréviation de « équivalent de toxicité »).

Le test aux daphnies pratiqué sur l'effluent donne la concentration de cet effluent qui, en 24 heures inhibe la mobilité de 50 % des daphnies mises en expérimentation, c'est la CE 50-24 h, cette valeur étant exprimée en pourcentage.

Cet essai est généralement réalisé sur un effluent après une décantation de 2 heures.

La quantité de matières inhibitrices (MI) de l'effluent, évaluée par sa toxicité aiguë sur les daphnies, et exprimée en équitox, est alors la suivante :

$$\text{MI (eq)} = \frac{100}{\text{CE 50-24 h}}$$

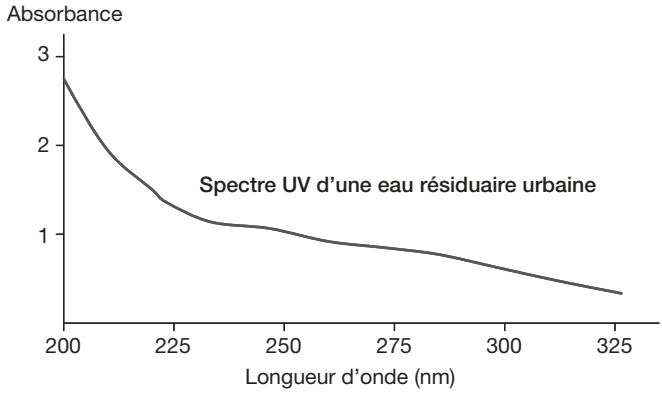
2.20 Analyse UV multiparamètre

■ Principe

De nombreuses molécules organiques présentes dans les eaux usées possèdent des groupements fonctionnels qui absorbent dans l'ultra-violet (gamme de longueur d'onde de 200 à 350 nm). Les groupes chromophoriques qui absorbent dans cette gamme de longueur d'onde possèdent pour certains des liaisons insaturées (noyaux aromatiques, doubles liaisons) ou encore des groupements carboxyl R-COOH), carbonyl (R_2-C = O), azoïque (-N = N-), amide (R-$CONH_2$), imine (R_2-CN)…

Des composés minéraux possèdent également cette propriété d'absorber dans l'UV. C'est le cas des ions nitrate, nitrite, chromate…

En raison de ces absorbances multiples à des longueurs d'onde variées de composés présents à des concentrations diverses, le spectre UV d'une eau usée se présente le plus souvent sous la forme d'un spectre dit continu, sans bande d'absorption marquée (voir spectre type ci-dessous).



L'analyse multi-longueurs d'onde de ce spectre UV, par des techniques avancées de déconvolutions spectrales, assistées par ordinateur et couplées à des études de corrélation entre l'absorbance UV et certains critères globaux de pollution, permettent d'accéder à une estimation des paramètres tels que la DCO, le COT et même la DBO_5 ou encore les MES.

☐ **Matériel**

– analyseur UV multiparamétrique travaillant dans une gamme spectrale de 200 à 350 nm ;

– cuves en quartz de trajet optique 5 ou 10 mm ;

– logiciel spécifique pour le traitement et l'acquisition des données.

Ce logiciel permet de réaliser un traitement des spectres obtenus (dérivées, lissage, décalage, etc.) et d'effectuer une déconvolution spectrale avancée.

■ Mode opératoire

L'échantillon prélevé est introduit dans la cuve du spectromètre. Le spectre est affiché graphiquement sur l'écran de l'appareil et le traitement informatique de ce spectre donne directement accès aux paramètres globaux (DCO, COT, DBO, MES), sous réserve que l'appareil ait été préalablement calibré avec l'eau usée analysée.

La mesure est très rapide et s'effectue en moins d'une minute.

Calibration de l'appareil

La calibration de l'appareil consiste à fournir au logiciel de traitement des données les paramètres caractéristiques de l'eau analysée.

Ces données sont acquises en comparant les résultats des méthodes standardisées de détermination des paramètres globaux aux résultats obtenus par l'acquisition du spectre UV.

S'il s'agit d'un effluent domestique, dont la composition est connue et peu variable d'une eau résiduaire à une autre, des données moyennes sont

intégrées à la base de données du logiciel. Elles peuvent être corrigées rapidement lors de l'installation de l'appareillage sur un site donné.

Pour les eaux résiduaires industrielles dont la composition est très variable en nature et en concentration de composés), cette calibration est réalisée pour chaque type d'effluent.

Après cette calibration initiale, des contrôles réguliers seront effectués pour assurer la fiabilité des résultats.

Domaine d'application

En théorie tous les types d'eau peuvent être analysés par cette technique : eaux usées (brutes ou traitées), eaux de process, eaux naturelles.

Utilisé principalement dans les stations d'épuration urbaines dans le cadre de l'auto-contrôle du fonctionnement des installations, les appareils commercialisés trouvent aussi des applications pour le contrôle de la pollution organique et particulaire d'effluents industriels, pour le contrôle de conformité des effluents traités avant leur rejet dans le milieu naturel ou pour le suivi de certains procédés industriels.

Leur simplicité et leur rapidité de fonctionnement permettraient aussi dans certains cas de les mettre en œuvre pour la détection de pollutions accidentelles.

Remarques

– Du fait de leur absorbance en UV, l'analyse de composés spécifiques et en particulier des ions nitrate (lmax = 207 nm, emax = 11 500 L mol-1 cm-1) peut être intégrée aux déterminations possibles avec ce type d'appareillage.

– D'un fonctionnement simple et rapide, cet outil analytique est accessible à tout opérateur.

3 • DOSAGES PARTICULIERS

Chaque paramètre spécifique, minéral ou organique, dosable en eau naturelle peut l'être également en eau résiduaire, à condition parfois de respecter certaines règles et/ou d'appliquer certains pré-traitements de l'échantillon prélevé.

Si l'analyse ne porte que sur les espèces dissoutes, l'échantillon devra être tout d'abord débarrassé de ses matières en suspension. Dans ce cas, si l'analyse fait appel à des méthodes spectrométriques d'absorption moléculaire ou à des méthodes titrimétriques avec indicateurs colorés, la couleur de l'eau résiduaire peut évidemment interférer. Bien que certaines méthodes aient été utilisées pour limiter cette interférence (clarification par addition de sulfate d'aluminium, extraction de l'élément à doser par un solvant, etc.), il est plus judicieux, dans ce cas, de choisir des méthodes de dosage où la couleur de l'eau ne présente pas ou très peu d'interférence, comme :

– des méthodes potentiométriques, par exemple pour le TAC ou pour certains anions comme les chlorures,

– des méthodes par spectrométrie d'émission dans la flamme, spectrométrie d'absorption atomique avec flamme ou avec four graphite, ou spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif (ICP ou ICP/MS) pour les métaux,

– des méthodes par chromatographie ionique pour les anions et les cations,

– des méthodes par chromatographie liquide ou gazeuse après extraction par voie liquide ou par voie solide, les effets de matrice pouvant encore être gênants notamment par détection en LC/MS.

Si l'analyse porte sur les espèces totales (dissoutes et en suspension), ce qui est le cas fréquent pour les métaux, une minéralisation préalable de l'échantillon est indispensable.

En général, la minéralisation est réalisée à l'eau régale, en respectant une concentration en matières en suspension inférieure à 20 g/L et une concentration en carbone organique total inférieure à 5 g/L. Si les valeurs sont supérieures, diluer l'échantillon. Il faut savoir que l'eau régale n'extrait pas toujours la totalité des éléments, notamment en présence de silice, d'oxyde de titane, d'oxyde d'aluminium, ou d'argile.

30 mL d'échantillon homogénéisé sont minéralisés après ajout de 8 mL d'eau régale (1/4 d'acide nitrique concentré + 3/4 d'acide chlorhydrique concentré) par chauffage 2 heures à 115 °C à reflux. Après minéralisation, le minéralisat est complété à 50 mL pour analyse.

Pour les huiles et les graisses, le dosage est précédé d'une extraction par un solvant compatible avec les règles d'hygiène et sécurité des laboratoires.

Ce paragraphe ne reprend donc pas toutes les méthodes de dosage présentées dans la partie sur l'analyse physico-chimiques des eaux naturelles. Toutefois, quelques paramètres, dont l'analyse est souvent nécessaire en eau résiduaire, sont cités (AOX, tensioactifs, fer, composés soufrés…) et/ou décrits (matières extractibles à l'hexane, cyanures, cyanates, morpholine, hydrazine…). En cas de besoin, le lecteur devra donc se reporter aux paragraphes sur les dosages des anions, cations et micropolluants organiques dans les eaux naturelles.

3.1 Agents de surface

Les agents de surface ou détergents sont des composés tensioactifs de synthèse présents notamment dans les eaux résiduaires urbaines et industrielles. Parmi les formules actives tensioactives des détergents, on peut trouver :

– des anions de type alkylbenzènes sulfonates (ABS) ou lauryl sulfonates (LAS) plus biodégradables,

– des cations de type sels d'ammonium quaternaire,

– des molécules non ionisées à base d'alkylphénols ou d'alcools polyéthoxylés.

Des adjuvants entrent également dans la formulation des produits commerciaux en tant que sequestrant, complexants, colorants, parfums, etc., qui sont soit des composés minéraux (polyphosphates, carbonates, silicates, perborates), soit des composés organiques (NTA, EDTA, alcanolamides, colorants) et des enzymes.

Les nuisances créées par les agents de surface proprement dits sont principalement la formation de mousses, le ralentissement du transfert de l'oxygène et les effets écotoxiques des alkylphénols, auxquelles il faut ajouter l'enrichissement en phosphates, en complexants et en bore dans les eaux naturelles.

Les méthodes d'analyse développées dans la partie consacrée aux eaux naturelles s'appliquent également aux eaux résiduaires. D'autres méthodes, moins sensibles mais plus simples, sont décrites ici pour les agents de surface cationiques et non ioniques.

3.1.1 Agents de surface anioniques

Se reporter à la méthode de dosage dans les eaux naturelles (A-10.3.2).

3.1.2 Agents de surface cationiques

■ Principe

Les réactifs cationiques, du type ammonium quaternaire, donnent en milieu acide un complexe coloré jaune avec l'alizarine sulfonate de sodium, extractible par le chloroforme et susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ Réactifs

– Solution d'alizarine sulfonate de sodium à 2 g/L.

– Chloroforme pour analyses.

– Solution d'acide chlorhydrique *N*.

– Solution mère d'agent de surface cationique à 100 mg/L.

Utiliser comme agent de surface celui dont l'enquête aura révélé l'utilisation prédominante.

– Solution fille d'agent de surface cationique à 20 mg/L.

Diluer la solution mère au 1/5.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décantation de 125 mL, introduire successivement :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon à 20 mg/L (mL)	0	1,5	7,5	15	22,5	30
Eau déionisée (mL)	30	28,5	22,5	15	7,5	0
Correspondance mg/L	0	1	5	10	15	20
Solution d'acide chlorhydrique *N* (mL)	1	1	1	1	1	1
Solution d'alizarine (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Chloroforme (mL)	10	10	10	10	10	10

Agiter énergiquement pendant 30 secondes, 3 fois. Laisser les phases se séparer. Recueillir la phase organique et effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 400 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Dans une ampoule à décantation de 125 mL, introduire 30 mL d'eau à analyser puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 30 mL d'eau déionisée. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 30 mL, la courbe donne directement la teneur en agents de surface cationiques exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– Dans le cas de difficultés pour la séparation des phases, centrifuger 5 minutes à 4 000 tr/min.

– Dans les eaux résiduaires, il y a complexation des agents tensioactifs anioniques en général beaucoup plus abondants avec des agents tensioactifs cationiques dont une fraction échappe de ce fait au dosage.

– En dehors des effluents urbains ou industriels, cette méthode peut être utilisée pour les eaux douces, l'eau de mer, ainsi que pour l'étude de la biodégradabilité des agents de surfaces cationiques.

3.1.3 Agents de surface non ioniques

■ Méthode spectrométrique d'absorption moléculaire au réactif iodo-ioduré

□ **Principe**

Les agents de surface non ioniques forment avec une solution iodo-iodurée un complexe coloré susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ **Réactifs**

– Solution iodo-iodurée :

iode		1 g
iodure de potassium		2 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

À conserver en flacon en verre teinté et à renouveler tous les 8 jours.

– Solution mère étalon d'agent de surface non ionique à 1 g/L, préparée à partir de l'agent de surface recherché.

– Solution fille étalon d'agent de surface à 20 mg/L. Diluer au 1/50 la solution précédente.

□ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Dans une série de fioles jaugées de 10 mL, introduire successivement :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon à 20 mg/L (mL)	0	1	2,5	5	7,5	10
Eau déionisée (mL)	10	9	7,5	5	2,5	0
Correspondance en mg/L d'agent de surface	0	2	5	10	15	20
Solution iodo-iodurée (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Attendre 5 minutes puis effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 500 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

□ **Mode opératoire**

Ajouter à 10 mL d'eau à analyser 0,25 mL de solution iodo-iodurée. Attendre 5 minutes puis effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 500 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

□ **Expression des résultats**

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe donne directement la teneur en agent de surface non ionique exprimée en milligrammes par litre.

> **Remarque**
> La courbe d'étalonnage doit être préparée avec l'agent de surface supposé être présent, car elle est différente pour chaque produit.

Méthode spectrométrique d'absorption moléculaire au cobaltothiocyanate d'ammonium

Principe

Le complexe formé entre le cobaltothiocyanate d'ammonium et les dérivés éthylénés est extrait par le benzène d'une solution saturée en chlorure de sodium. L'extrait coloré est susceptible d'un dosage spectrométrique.

Réactifs

– Solution de cobaltothiocyanate d'ammonium :

thiocyanate d'ammonium		62 g
nitrate de cobalt Co $(NO_3)_2$, 6 H_2O		28 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Benzène pur pour analyse (à utiliser sous hotte aspirante).

– Chlorure de sodium cristallisé.

– Solution étalon d'agent de surface non ionique à 0,5 g/L. Utiliser comme agent de surface celui dont l'enquête aura révélé l'utilisation prédominante.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décantation, introduire successivement :

Numéro des ampoules	T	I	II	III	IV	V	VI	VII
Solution étalon à 0,5 mg/L (mL)	0	1	2	3	4	5	10	20
Eau déionisée (mL)	100	99	98	97	96	95	90	80
Solution de cobaltothiocyanate d'ammonium (mL)	15	15	15	15	15	15	15	15
Chlorure de sodium (g)	40	40	40	40	40	40	40	40
Agiter, laisser reposer 15 min et ajouter								
Benzène (mL)	25	25	25	25	25	25	25	25
Correspondance en mg/L	0	5	10	15	20	25	50	100

Agiter 1 minute puis laisser reposer pour obtenir une bonne séparation des deux phases. Rejeter la phase aqueuse et transvaser la phase benzénique dans un tube à centrifuger. Centrifuger 10 minutes, séparer la phase benzénique. Effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 320 nm. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau dans une ampoule à décantation ou si les eaux sont très polluées 10 ou même 1 mL d'eau. Compléter à 100 mL avec de l'eau permutée. Opérer ensuite comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 100 mL d'eau permutée. Effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 320 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL, la courbe donne la teneur en agent de surface non ionique exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– Le mode opératoire de cette méthode de dosage ne permet pas le dosage des polyoxyéthylènes glycols (PEG), la solution sursaturée en chlorure de sodium relargue les alkylphénols qui forment ainsi le complexe.

– La relation linéaire entre la concentration en agents de surface et l'absorption est vérifiée entre 1 et 75 µg/mL pour les composés faiblement oxyéthylénés et entre 5 et 100 µg/mL pour les composés à 9 0E et plus.

– Vérifier l'absence d'agents de surface cationiques, susceptibles de développer un complexe bleu avec le cobalt.

3.2 AGV (Acides gras volatils)

Les acides gras volatils sont analysés pour contrôler notamment le fonctionnement des opérations d'hydrolyse avant une méthanisation, soit dans le cas de l'épuration d'eaux usées, soit dans le cas d'opération de digestion de boues. C'est dans la phase d'acidogénèse que ces AGV sont formés.

Une méthode de dosage global consiste à acidifier un volume « v » d'eau jusqu'à pH 3,5 avec de l'acide sulfurique (par exemple 0,1 M), puis chauffer jusqu'à ébullition pendant quelques minutes (3 minutes est une durée habituellement conseillée). Après refroidissement, le dosage de l'acidité est réalisé par de la soude 0,1 M :

– jusqu'à pH 4 (volume V de soude correspondant),

– puis (en continuant) jusqu'à pH 7 (volume cumulé de soude V').

La teneur AGV est alors donnée par l'expression :

$$\text{AGV (en mé/L)} = (V' - V).100/v$$

$$\text{AGV (en mg/L d'acide acétique)} = (V' - V).\ 6000/v$$

D'autres méthodes existent pour doser spécifiquement les acides gras volatils, par exemple chromatographie gazeuse (directement ou après dérivation par estérification) ou par chromatographie liquide.

3.3 AOX (et TOX)

Parmi les composés organiques présents dans les eaux, les structures halogénées sont largement représentées. Dans les eaux résiduaires (comme dans les eaux naturelles), la présence de composés halogénés s'inscrit le plus souvent dans une origine anthropique, avec la présence de solvants organiques chlorés, de pesticides organochlorés ou organobromés, de sous-produits de l'industrie chimique. Dans les eaux des circuits de refroidissement ou des tours aéroréfrigérantes, la présence de structures organohalogénées résulte majoritairement de la désinfection par le chlore.

La mesure du TOX (*Total Organically bound Halides* ou composés organohalogénés totaux) est souvent confondue avec celle des AOX (*Adsorbable Organically bound Halides* ou composés organohalogénés adsorbables), qui est réalisée après adsorption des composés organiques sur du charbon actif, et ne prend donc en compte que les composés retenus sur le charbon dans les conditions d'adsorption. Un chauffage à 50 °C, suivi d'un dégazage par l'azote permet de quantifier séparément les composés organohalogénés volatils (POX : *Purgeable Organically bound Halides*) ou de les éliminer pour le dosage des composés organohalogénés non volatils (NPOX : *Non Purgeable Organically bound Halides*).

La technique de dosage des AOX est basée sur la minéralisation par pyrolyse des composés organohalogénés, Elle se décompose en une première étape de concentration des composés organohalogénés (sur du charbon actif en poudre), puis une élution des halogénures minéraux (par lavage du charbon par une solution de nitrate de potassium), une pyrolyse du charbon dans un four à haute température (800 °C), et finalement, une titration par microcoulométrie des acides halogénés HX formés. Les concentrations sont exprimées en μg/L d'équivalent Cl^- (μg Cl/L).

Se reporter au § A-9.8 de la partie « Analyse physico-chimique des eaux naturelles ».

3.4 Cyanates

La présence des cyanates dans les eaux résiduaires est généralement due à la chloration alcaline des cyanures.

■ Principe

En milieu acide, les cyanates sont hydrolysés en ammonium, dosé ensuite par une des méthodes décrites au dosage de l'ammonium.

$$CNO^- + 2\ H^+ + H_2O \rightarrow NH_4 + CO_2$$

Dans un premier temps, l'ammonium présent dans l'échantillon est éliminé par distillation en milieu alcalin.

□ Prélèvement

Les cyanates étant instables, les échantillons ne peuvent être conservés que pendant un temps limité au réfrigérateur et après avoir ajusté le *p*H > 12.

□ Réactifs

– Solution d'hydroxyde de sodium à 250 g/L.

– Solution d'hydroxyde et sulfure de sodium.

Saturer 250 mL de solution d'hydroxyde de sodium à 250 g/L avec de l'hydrogène sulfuré, ajuster ensuite le volume à 1 L avec la solution d'hydroxyde de sodium. Mélanger.

– Solution d'acide sulfurique :

acide sulfurique (*d* = 1,83)		250 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon d'ammonium à 0,215 g/L d'ion ammonium :

sulfate d'ammonium anhydre		0,787 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Cette solution contient 0,215 mg/mL d'ion ammonium et correspond à 0,5 mg/mL d'ion cyanate CNO^-.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer une série de dilutions de la solution ammoniacale correspondant à des teneurs en cyanate allant de 0,1 à 10 mg/L. Traiter 100 mL de chacune des dilutions par 5 mL de solution d'acide sulfurique, porter à l'ébullition 30 min et poursuivre comme pour le mode opératoire. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Prélever 100 mL d'échantillon dans un bécher de 250 mL. Ajouter 5 mL de solution d'hydroxyde et sulfure de sodium et quelques billes de verre. Porter à l'ébullition 30 min en veillant par des ajouts d'eau permutée en cours d'ébullition à ce que le volume ne descende pas en dessous de 75 mL. Après refroidissement, neutraliser la solution par de l'acide sulfurique et ajouter un excès de 5 mL. Porter à nouveau à l'ébullition pendant 30 min en veillant par des ajouts d'eau permutée à ce que le volume ne soit pas inférieur à 75 mL. Après refroidissement, neutraliser la solution si nécessaire, ajuster le volume à 100 mL et procéder au dosage de l'ammonium selon l'une des méthodes décrites au dosage de l'ammonium dans les eaux naturelles (A.8.1). Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Déterminer la concentration en cyanate à partir de la courbe d'étalonnage en tenant compte de ce que 0,215 mg d'ion ammonium correspond à 0,500 mg d'ion cyanate.

Remarques

– Certains composés organiques sont susceptibles de libérer des ions cyanates par l'hydrolyse en milieu alcalin ou en milieu acide.

– En présence d'oxydants forts, les cyanures peuvent être transformés en cyanate et les cyanates en anhydride carbonique et azote.

– Pour les autres interférences, se reporter à la méthode utilisée pour le dosage de l'ammonium.

3.5 Dosage des cyanures

Dans les eaux, notamment résiduaires, les cyanures totaux comprennent :

– les cyanures alcalins, de formule générale $A(CN)_x$ (avec A = alcalin),

– les cyanures métalliques (qui sont des complexes plus ou moins « forts »), de formule générale $A_yM(CN)_x$ (avec M = Fe, Cd, Ni, Zn, Ag, Pb, Hg, etc.),

– et d'autres formes plus ou moins complexées (chlorure de cyanogène par exemple).

Dans l'industrie on entend souvent par « cyanures libres » les cyanures titrés directement par le nitrate d'argent. Dans les eaux, les cyanures dits « libres » comprennent les cyanures alcalins et une fraction plus ou moins importante des cyanures métalliques. Cette fraction est évidemment fonction des conditions de « libération » des ions cyanures de ces derniers complexes.

Par distillation acide, certains sont rapidement dissociés comme les cyanures de cadmium, de zinc ou d'argent et comme les cyanures de nickel et de cuivre. D'autres le sont de façon variable, principalement en fonction du *p*H. Les complexes cobaltiques le sont beaucoup plus lentement. Quant aux ferrocyanures et aux ferricyanures, ils sont peu décomposés sauf sous l'action de la lumière et de certains réactifs. Les sels de cuivre et les sels d'étain facilitent la décomposition des ferrocyanures et des ferricyanures en donnant d'abord des cyanures simples de cuivre et d'étain qui sont facilement décomposables en milieu acide. La distillation préalable, en même temps qu'elle élimine certaines interférences, permet donc la décomposition de beaucoup de cyanures métalliques. D'une façon générale, cette opération n'est pas indispensable s'il n'y a pas de corps susceptibles d'introduire des interférences et si l'on a seulement affaire à des cyanures alcalins. Étant donné les transformations possibles des différents composés cyanurés, l'analyse doit être pratiquée dès que possible après le prélèvement. Dans le cas contraire, conserver l'échantillon à 4 °C dans un flacon en verre borosilicaté après l'avoir ramené à *p*H 12 par addition de soude.

3.5.1 Dosage des cyanures dits « libres »

La toxicité des cyanures pour les organismes aquatiques est liée à la présence d'acide cyanhydrique « disponible », donc à la présence d'ion cyanure (CN^-) libre ou encore facilement libérable par des variations « douces » des conditions physico-chimiques du milieu (pH, température, force ionique). Il peut donc être utile de distinguer les cyanures « libres » des cyanures « totaux ».

Certaines méthodes permettent de doser assez rapidement les cyanures libres présents dans une eau sans appliquer des conditions physico-chimiques « sévères » pour libérer les cyanures complexés. Ces méthodes qui peuvent être qualifiées de dosage de cyanures libres. C'est le cas de la méthode par microdiffusion et de la méthode potentiométrique (par électrode spécifique). Elles peuvent aussi consister à appliquer directement sur l'eau les techniques finales de dosage des cyanures libérés dans les méthodes dites de cyanures « aisément libérables » ou dites de cyanures « totaux ».

■ Méthode par microdiffusion

□ Principe

L'acide cyanhydrique libre est déplacé de la solution en milieu tamponné à *p*H 7,1 puis fixé dans une solution de soude. Le dosage s'effectue par spectrométrie avec la pyridine-pyrazolone.

☐ **Matériel spécial**

– Cellules de Conway.

☐ **Réactifs**

– Solution d'hydroxyde de sodium *N*.

– Solution tampon *p*H 7,1 :

hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4 , 12 H_2O)		111,9 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)		42,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution mère étalon de cyanure de potassium à 0,500 g/L de CN^- :

cyanure de potassium (KCN)		1,255 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Titrer la solution par la méthode titrimétrique au nitrate d'argent avant chaque utilisation.

– Solution fille étalon de cyanure à 5 mg/L de CN^-.

Amener 10 mL de la solution mère à 1 litre avec de l'eau permutée.

Préparer cette solution extemporanément.

☐ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Effectuer la microdiffusion de l'acide cyanhydrique dans une série de cellules de Conway. Introduire successivement dans la partie périphérique de chaque cellule :

Numéro des cellules	T	I	II	III	IV
Solution tampon *p*H 7,1 (mL)	2	2	2	2	2
Solution étalon de cyanure à 5 mg/L de CN^- (mL)	0	1	2	3	4
Eau déionisée (mL)	5	4	3	2	1
Correspondance en microgrammes de CN^-	0	5	10	15	20

Introduire dans la partie centrale de chaque cellule 2 mL de solution d'hydroxyde de sodium *N*. Siliconer les bords des cellules et fermer immédiatement la cellule au moyen d'une plaque de verre. Placer la cellule à l'obscurité et laisser au moins 24 heures la diffusion s'effectuer. Pratiquer ensuite le dosage sur 1 mL de solution d'hydroxyde de sodium prélevée dans la partie centrale en utilisant la méthode spectrométrique d'absorption moléculaire (B.5.6.4).

☐ **Mode opératoire**

Introduire dans la partie périphérique d'une cellule de Conway 2 mL de solution tampon et 5 mL d'eau à analyser. Poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La courbe donne la teneur en CN^-, exprimée en microgrammes dans la prise d'essai.

Remarques

– Il est recommandé de vérifier par un essai préalable que le *p*H de l'échantillon après addition de la solution tampon est de 7,1 ± 0,1, l'ajuster éventuellement au moyen de l'acide acétique dilué au 1/50, noter le volume ; si nécessaire ajouter ce volume à la prise d'essai introduite dans le microdiffuseur.

– La méthode convient aux eaux dont la teneur en cyanures libres (CN^-) est supérieure à 0,1 mg/L.

Les sulfures, cyanates, thiocyanates n'interfèrent pas.

Méthode potentiométrique

Principe

La mesure de l'activité ionique des cyanures dans des conditions expérimentales bien définies de concentration en ions et de *p*H, permet de déterminer la teneur de ces éléments dans l'eau.

Matériel spécial

– Électrode spécifique des ions CN^- (Ag_2S-AgI) avec matériel de mesure et électrode de référence au calomel.

– Agitateur électro-magnétique.

Réactifs

– Hydroxyde de sodium 0,1 *N*.

– Hydroxyde de sodium *N*.

– Solution étalon à 2,5 g/L en CN^- :

cyanure de potassium		6,25 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Cette solution est stable 8 jours. La conserver en flacon en polyéthylène.

– Solution fille étalon à 25 mg/L :

solution mère	1 mL
solution d'hydroxyde de sodium 0,1 *N*	100 mL

Se conserve 24 h.

– Solutions filles étalons à 2,5 ; 0,25 et 0,025 mg/L.

Préparer ces solutions extemporanément en diluant la solution précédente avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 *N*.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire dans un bécher 50 mL de chaque solution fille étalon. Ajouter 5 mL de solution d'hydroxyde de sodium *N*. Agiter au moyen d'un agitateur magnétique. Effectuer les mesures dans les mêmes conditions. Tracer la courbe d'étalonnage.

□ **Mode opératoire**

Dans un bécher contenant un barreau aimanté, introduire 50 mL d'eau à analyser. Ajouter 5 mL d'hydroxyde de sodium *N*. Agiter au moyen d'un agitateur magnétique. Immerger l'électrode, attendre 3 minutes et effectuer la mesure, de préférence à 25 °C. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

□ **Expression des résultats**

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en cyanures en milligrammes par litre (exprimée en CN^-).

Remarques

– La détermination doit être effectuée en milieu basique, pour un *p*H < 11 la fraction acide HCN non dissociée échappant au dosage devient trop importante.

– Le temps de réponse de l'électrode varie avec la teneur en ions CN^-.

– La mesure doit être effectuée dans les mêmes conditions de température et d'agitation que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

– Le dosage direct n'est possible que pour les eaux naturelles, dans les autres cas pratiquer une distillation.

– L'électrode donne une réponse quantitative aux cyanures de zinc et de cadmium mais non au cyanure de nickel et aux ferri et ferrocyanures.

– Les solutions concentrées de cyanures dissolvent petit à petit la membrane. Celle-ci ne doit pas être utilisée pour des eaux contenant plus de 130 mg de CN^- par litre.

– Les chlorures, les bromures, les iodures gênent le dosage lorsque le rapport entre leur concentration dans l'échantillon et la concentration en cyanures est respectivement supérieur à 10 000, 800 et 0,1.

– La présence de thiourée perturbe les mesures en donnant des résultats par excès.

– Les ions sulfures doivent être absents, toutefois l'addition de 2 mL d'une solution de sulfate de cadmium à 2,56 g/L permet de remédier à l'interférence.

3.5.2 Dosage des cyanures dits « aisément libérables »

La libération de certains complexes cyano-métalliques, en cyanure d'hydrogène, par un léger abaissement du pH (à 4) en présence de zinc métallique et d'EDTA, suivi d'un dosage des ions cyanures libérés conduit à la notion de cyanures « aisément libérables ».

■ Traitement préliminaire

□ **Prélèvement**

Pour un prélèvement de 1 litre, ajouter 5 mL de soude 1 M et 5 mL de solution de chlorure d'étain. S'assurer immédiatement après le prélèvement que le pH est de l'ordre de 8 (avec de la phénolphtaléïne par exemple). Puis, ajouter 10 mL de la solution de sulfate de zinc et de cadmium.

Analyser si possible immédiatement ou conserver au froid et à l'obscurité.

Principe

Après libération de l'échantillon par un traitement à pH 4 avec du zinc métallique et de l'EDTA, le cyanure d'hydrogène est entraîné par un courant d'air et piégé dans la soude.

Matériel spécial

– Verrerie courante de laboratoire.

– Appareil pour l'entraînement gazeux de HCN, comportant un ballon tri-col (500 mL) un réfrigérant à reflux (relié au col central du ballon), un flacon absorbeur spécialement conçu à cet effet (relié à l'extrémité supérieure du réfrigérant), un système de branchement du courant d'air (relié à un des cols latéraux du ballon), un barboteur pour laver l'air relié d'une part au ballon tri-col (par le système de branchement ci-dessus) et d'autre part à l'air.

– Pompe d'aspiration reliée au flacon absorbeur et munie (éventuellement) d'un débitmètre.

– pH-mètre avec une électrode adaptable à un col latéral du ballon à entraînement.

Réactifs

– Hydroxyde de sodium 1 M.

– Acide chlorhydrique 1M.

– Solution de chlorure d'étain :

Chlorure d'étain dihydraté ($SnCl_2$, 2 H_2O)		50 g
Acide chlorhydrique 1M		40 mL
Eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

– Solution de sulfate de zinc et de cadmium :

Sulfate de zinc heptahydraté ($ZnSO_4$, 7 H_2O)		100 g
Sulfate de cadmium octohydraté ($CdSO_4$, 8 H_2O)		100 g
Eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution tampon pH 4 :

Hydrogénophtalate de potassium ($C_8H_5KO_4$)	80 g
Eau chaude déionisée	920 mL

– Solution d'EDTA :

EDTA sel disodique ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2$, 2 H_2O)	100 g
Eau chaude déionisée	940 mL

– Poussière de zinc.

Mode opératoire

Commencer par introduire 10 mL de soude 1 M dans le flacon absorbeur, puis le relier au réfrigérant par son extrémité basse et à la pompe par son extrémité haute. Aspirer à un débit d'environ 40 à 50 L/h.

Introduire ensuite dans le ballon tri-col :

– 10 mL de la solution d'EDTA,

– 50 mL de la solution tampon,

– 100 mL d'échantillon,

– 0,2 à 0,4 g de poussière de zinc.

S'assurer que le pH est à la valeur de 4.

Introduire dans le barboteur de lavage de l'aire, 100 mL de soude 1 M.

Entraîner par l'air pendant 4 heures.

Le dosage des ions cyanures libérés est effectué par une des méthodes mentionnées ci-dessus (cyanures « libres ») ou ci-dessous « cyanures totaux ».

3.5.3 Dosage des cyanures dits « totaux »

L'ion CN^- dosé provient de la totalité des cyanures alcalins et de la décomposition d'une fraction importante de la plupart des cyanures métalliques doubles (fer, cadmium, cuivre, nickel, etc.) ; les cyanates, thiocyanates et chlorure de cyanogène ne sont pas décomposés.

La méthode titrimétrique doit être réservée aux concentrations élevées, la méthode potentiométrique est intéressante par sa facilité de mise en œuvre, la méthode spectrométrique est plus sensible mais délicate et plus longue. Ces deux méthodes permettent des limites de détection de l'ordre de 50 µg/L. Toutefois, il peut y avoir interférence avec les dérivés soufrés et certains produits de dégradation, comme l'ion thiocyanate ou cyanate et les ions nitriles. La chromatographie en phase gazeuse apporte une amélioration en dosant l'ion cyanure à l'état de chlorure de cyanogène.

■ Traitement préliminaire

□ Principe

Les cyanures complexes sont décomposés à chaud en présence de sulfate de cuivre ou de chlorure d'étain et d'acide sulfurique pour bloquer les sulfures ; l'acide cyanhydrique libéré entraîné par un courant gazeux est recueilli dans une solution d'hydroxyde de sodium. Les ions cyanures sont ensuite dosés par titrimétrie, spectrométrie d'absorption moléculaire ou potentiométrie.

□ Matériel spécial

– Montage comprenant un ballon à distiller de 1 litre comportant une tubulure centrale pour l'introduction des réactifs et de l'air, une tubulure secondaire reliée à un réfrigérant à boules, lui-même raccordé à un flacon comportant un diffuseur pour l'absorption des gaz et relié à une fiole sous vide. L'air peut être remplacé par de l'azote ou de l'argon.

□ Réactifs

– Solution de sulfate de cuivre ($CuSO_4$, 5 H_2O) à 200 g/L.

– Solution de chlorure d'étain :

chlorure d'étain ($SnCl_2$, 2 H_2O)		500 g
acide chlorhydrique *N*		400 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Acide sulfurique (*d* = 1,84 dilué au 1/2 en volume).

– Solution d'hydroxyde de sodium *N*.

Mode opératoire

Introduire successivement dans le ballon de l'appareil à distiller 30 mL d'eau permutée, 10 mL de solution de sulfate de cuivre, 2 mL de solution de chlorure d'étain, 250 mL d'eau à analyser et 100 mL d'eau permutée. Adapter le ballon au réfrigérant puis verser 25 mL d'acide sulfurique au 1/2 par la tubulure centrale. Porter rapidement à l'ébullition (en 5 min), régler l'arrivée de gaz à débit constant, maintenir l'ébullition sous reflux pendant 1 heure. Arrêter le chauffage et laisser refroidir en conservant le barbotage pendant 1 heure. Transvaser la solution sodique dans une fiole jaugée, rincer l'absorbeur et compléter le volume de la fiole à 250 mL. Effectuer le dosage sur cette solution.

Remarques

– La distillation ne permet pas d'éliminer l'interférence due aux acides gras.

– La méthode convient aux eaux dont la teneur en cyanures est supérieure à 10 µg/L.

Méthode titrimétrique

Principe

L'addition de nitrate d'argent dans la solution de cyanure donne un précipité de cyanure d'argent soluble dans un excès de cyanure alcalin. Le dosage est effectué en présence de *p*-diméthylaminobenzalrhodamine qui vire du jaune au rose en présence d'un excès d'ions Ag^+.

Réactifs

– Solution de nitrate d'argent 0,1 *N*.

1 mL de cette solution correspond à 5,2 mg de cyanures (en CN^-).

– Solution de *p*-diméthylaminobenzalrhodamine à 0,02 % dans l'acétone.

Mode opératoire

Ajouter au distillat 0,5 mL de solution d'indicateur. Effectuer le dosage à l'aide de nitrate d'argent 0,1 *N* jusqu'à virage du jaune canari au saumon. Opérer dans les mêmes conditions sur un échantillon d'eau permutée contenant la même quantité d'hydroxyde de sodium et de réactif indicateur.

Expression des résultats

La teneur en cyanures, exprimée en milligrammes de CN^- par litre est égale à :

$$\frac{(A - B) \times 5{,}2 \times 1\,000}{250}$$

A = Volume de solution de nitrate d'argent utilisé pour l'échantillon (mL).

B = Volume de solution de nitrate d'argent utilisé pour le témoin (mL).

Remarques

– La limite de détection est d'environ 0,1 mg/L en CN^-.

– Le virage étant délicat à saisir, il y a intérêt à opérer sur des échantillons témoins.

– Un excès d'hydroxyde de sodium gêne le dosage.

– Les sulfures, les acides gras peuvent perturber la mesure. Il en est de même de certaines substances oxydantes ou hydrolysantes qui peuvent contribuer à former de l'acide cyanhydrique.

– Les sulfures peuvent être éliminés par addition de petites quantités de carbonate de plomb à *p*H 11. Séparer par filtration en évitant un contact trop prolongé.

– Les acides gras peuvent être éliminés par extraction avec 20 % de chloroforme après avoir amené l'échantillon à *p*H 6-7 par l'acide acétique.

■ Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

□ Principe

Les cyanures libres sont transformés par la chloramine T en chlorure de cyanogène qui réagit avec la pyridine pour former de l'aldéhyde glutaconique. Ce dernier mis en présence de 1-phényl-3-méthyl-5-pyrazolone, donne une coloration bleue susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ Matériel spécial

– Solution d'acide acétique à 2 % :

acide acétique cristallisable		20 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution tampon *p*H 6 :

acétate de sodium anhydre		100 g
eau déionisée	*q.s.p.*	900 mL

Ajuster le *p*H à 6 avec une solution d'acide acétique diluée au 1/10.

– Solution d'hydroxyde de sodium 0,2 *N*.

– Solution de chloramine T à 1 %.

À préparer chaque jour.

– Réactif pyridine-pyrazolone :

phényl-1-méthyl-3-pyrazolone-5		4 g
bis pyrazolone		0,08 g
pyridine	*q.s.p.*	100 mL

À préparer chaque jour.

– Solution mère étalon de cyanure à 1 g/L de CN^- :

cyanure de potassium		2,51 g
solution d'hydroxyde de sodium 0,2 *N*	*q.s.p.*	1 000 mL

Vérifier chaque semaine le titre de cette solution par la méthode titrimétrique.

– Solution fille étalon de cyanure à 2 mg/L de CN^-.

Diluer au 1/500 la solution mère avec de la solution d'hydroxyde de sodium.

À préparer extemporanément.

☐ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Dans une série de béchers de 50 mL, introduire successivement :

Numéro des béchers	T	I	II	III	IV	V
Solution de CN^- à 2 mg/L (mL)	0	1	2	3	4	5
Solution d'hydroxyde de sodium 0,2 *N* (mL)	5	4	3	2	1	0
Eau déionisée (mL)	20	20	20	20	20	20
Solution tampon *p*H 6 (mL)	5	5	5	5	5	5
Vérifier le *p*H et l'ajuster à 6,5 avec la solution d'acide acétique.						
Transvaser dans les fioles jaugées de 50 mL.						
Solution de chloramine T à 1 % (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Attendre 1 ou 2 minutes puis ajouter :						
Réactif pyridine pyrazolone (mL)	1	1	1	1	1	1
Eau déionisée (mL) *q.s.p.*	50	50	50	50	50	50
Correspondance en mg de CN^-	0	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010

Boucher les fioles, agiter puis attendre 20 à 25 min à l'obscurité et à une température inférieure à 25 °C. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 620 nm. Construire la courbe d'étalonnage.

☐ **Mode opératoire**

Prélever 25 mL de distillat, les introduire dans un bécher, ajouter 5 mL de solution tampon puis poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

☐ **Expression des résultats**

La courbe donne la teneur en CN^- exprimée en milligrammes contenus dans la prise d'essai.

Remarques

– Les temps de repos du mode opératoire doivent être rigoureusement les mêmes que ceux appliqués pour la courbe d'étalonnage.

– Pour des teneurs en CN^- inférieures à 1 µg/L, effectuer les lectures en cuves de 50 mm. Préparer une gamme d'étalonnage avec des concentrations comprises entre 0,1 et 2 µg de CN^-.

■ Méthode par chromatographie gazeuse

☐ **Principe**

Les ions cyanures sont transformés en chlorure de cyanogène par la chloramine T, dosé ensuite par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un détecteur à capture d'électrons.

Cette méthode simple, rapide et spécifique des ions cyanures permet de s'affranchir des interférences avec les ions cyanate et thiocyanate. Particulièrement adaptée à des analyses de routine, elle est applicable à des concentrations comprises entre 5 et 2000 µg/L. Réalisée en un seul temps, elle évite les pertes dues à des manipulations successives.

☐ **Matériel spécial**

– Chromatographe en phase gazeuse.
– Passeur d'échantillons espace de tête.
– Détecteur à capture d'électrons.
– Intégrateur.
– Colonne CP Sil 8B type méthylsilicone (longueur : 50 m ; épaisseur de film : 1,2 µm ; diamètre interne : 0,23 mm ; diamètre externe : 0,32 mm).
– Fiole jaugée de 50 et 100 mL, qualité étalon.
– Pipettes double trait de 5 et 10 mL de classe A.
– Pipettes automatiques de 500, 1 000, 5 000 µL.
– Tubes spéciaux de 2 mL.
– Étuve thermostatée à 65 °C.
– Flacons de 20 mL avec capsule aluminium, septum butyl/PTFE et étoile en aluminium.
– Pinces à sertir et désertir.

☐ **Réactifs**

– Eau déionisée.
– Solution d'acide orthophosphorique à 50 % dans l'eau permutée.
– Chloramine T à 10 % diluée extemporanément avec de l'eau permutée.
– Solution mère étalon de cyanure à 100 mg/L de CN^- :

cyanure de potassium		251 mg
solution d'hydroxyde de sodium 0,1 *N*	*q.s.p.*	1 L

☐ **Établissement de la courbe d'étalonnage**

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, procéder aux 6 dilutions successives suivantes :

Solutions utilisées pour les dilutions	Solutions filles obtenues par dilution					
	A	B	C	D	E	F
Solution étalon mère à 100 mg/L (mL)	10					
Solution A 10 mg/L (mL)		20	5			
Solution B 2 mg/L (mL)				10		
Solution C 0,5 mg/L (mL)				10	1	
Eau déionisée (mL)	90	80	95	90	90	99
Concentration en mg/L de CN^-	10	2	0,5	0,2	0,05	0,005

Dans une série de flacons de 20 mL, introduire 5 mL de chacune des solutions étalons et préparer un témoin avec 5 mL d'eau permutée. Introduire dans un nombre de tubes équivalents de 3 mL, 1 mL de solution de chloramine T en veillant à ne pas mettre de solution sur les parois des tubes. Placer délicatement un de ces tubes à l'intérieur de chaque flacon de 20 mL, injecter rapidement 0,5 mL de solution d'acide phosphorique dans la solution étalon ce qui libère l'acide cyanhydrique. Boucher chaque flacon avec un septum et le sertir immédiatement. Placer les flacons sertis dans une étuve thermostatée à 65 °C pendant 1 h 30 ce qui permet une réaction complète et rapide.

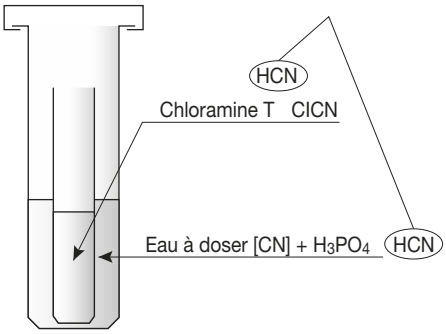


Schéma de principe du dosage des cyanures par formation de chlorure de cyanogène

Placer chaque flacon dans le passeur d'échantillons d'un espace de tête.

Effectuer l'analyse avec un chromatographe équipé d'un déctecteur à capture d'électrons et d'une colonne type méthyl-silicone, en se reportant aux indications données par le constructeur pour la température, les temps de passage, les débits des gaz, le temps de rétention, etc.

Tracer la courbe d'étalonnage en utilisant la hauteur des pics.

Mode opératoire

Introduire la prise d'échantillon dans un flacon de 20 mL et poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Mesurer la hauteur du pic et se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligrammes par litre de CN^-.

Remarques

– L'intérêt de cette méthode est d'obtenir la libération de l'acide cyanhydrique et la formation de chlorure de cyanogène dans le même milieu réactionnel.

– La limite de détection a été déterminée à 5 µg/L (5 fois le bruit de fond).

– La méthode présente une bonne répétabilité avec des coefficients de variation allant de 2 à 7 % pour les concentrations de la gamme étalon allant de 0,005 mg/L à 2 mg/L.

La reproductibilité sur 4 jours est excellente avec des coefficients de variation de l'ordre de 6 % pour les concentrations de 0,05, 0,2 et 0,5 mg/L.

Méthodes de référence

AFNOR NF T 90-107 (août 2002) Qualité des eaux – Détermination de l'indice cyanure (indice de classement T 90-107).

AFNOR NF EN ISO 14403 (mai 2002) Qualité des eaux – Dosage des cyanures totaux et des cyanures libres par analyse en flux continu (indice de classement T 90-081).

3.6 EDTA sel tétrasodique

Utilisés comme complexants des métaux ou des alcalino-terreux dans les générateurs de vapeur, dans l'industrie nucléaire, dans le traitement de surfaces métalliques dans les industries diverses, le sel tétrasodique de l'EDTA (éthylènediamine tétraacétate) est également un substitut aux phosphates pour augmenter les performances des détergents.

La méthode de dosage applicable aux eaux naturelles (cf. § A-10.11.2) peut être utilisée pour les eaux résiduaires. Elle consiste à évaporer à sec l'échantillon, puis à procéder à une estérification et à un traitement du résidu sec suivis d'une extraction dans l'hexane et d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse. Des méthodes moins sensibles et parfois sujettes à des interférences (couleur de l'eau, présence de polyphosphates et de métaux chélatants) peuvent se substituer à la méthode par chromatographie gazeuse.

3.6.1 Sels tétrasodiques de l'EDTA

Cette méthode permet la détermination de l'EDTA tétrasodique total et libre (partie non chélatée) dans une gamme de concentrations comprise entre 0,25 et 20 mg/L.

■ Principe

L'addition de zirconium et d'un indicateur, l'orange xylénol, à un échantillon contenant de l'EDTA produit une coloration rouge dont l'intensité est inversement proportionnelle à la concentration en EDTA tétrasodique, en chélates de métaux lourds ou de terres rares.

□ Matériel spécial

Spectrophotomètre avec cuves de 2 cm.

□ Réactifs

– Solution d'orange xylénol :

orange xylénol	0,80 g
acide chlorhydrique (d = 1,19)	335 mL
chlorhydrate d'hydroxylamine (NH_2OH, HCl)	100 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre l'orange xylénol dans l'acide chlorhydrique. À part, dissoudre le chlorhydrate d'hydroxylamine dans 500 mL d'eau. Mélanger les 2 solutions, ajuster le volume à 1 litre. Laisser la solution reposer toute la nuit, puis la filtrer sur membrane 0,1 µm.

– Réactif A au zirconium :

oxychlorure de zirconium ($ZrOCl, 8\ H_2O$)	4,237 g
acide chlorhydrique (*d* = 1,19)	65 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

Dissoudre l'oxychlorure de zirconium dans 500 mL d'eau déionisée contenant l'acide chlorhydrique. Ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déionisée.

– Réactif B au zirconium :

réactif A	10 mL
acide chlorhydrique (*d* = 1,19)	5 mL
eau déionisée	*q.s.p.* 250 mL

– Solution mère étalon d'EDTA tétrasodique :

éthylènediamine disodique dihydraté	1,958 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

1 mL de cette solution correspond à 2 mg d'EDTA tétrasodique.

– Solution fille étalon d'EDTA tétrasodique :

Diluer au 1/50 la solution mère. 1 mL de cette solution correspond à 0,04 mg de l'EDTA tétrasodique.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 50 mL, préparer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon à 0,04 mg/L de Na_4EDTA (mL)	0	5	10	15	20	25
Eau déionisée (mL)	50	45	40	35	30	25
Correspondance en mg/L de Na_4EDTA	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1

Poursuivre comme pour le mode opératoire.

Tracer la courbe d'étalonnage en tenant compte de la valeur du témoin.

Mode opératoire

Introduire dans une fiole jaugée de 50 mL une aliquote de l'échantillon dont la teneur en Na_4EDTA est comprise entre 0,1 et 1 mg ; ajouter 5 mL de solution d'orange xylénol et 5 mL de réactif B au zirconium. Ajuster le volume à 50 mL avec de l'eau permutée. Au bout d'une heure, effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 535 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La teneur en NA_4EDTA total exprimée en milligrammes par litre est obtenue à partir de l'expression :

$$Na_4EDTA \text{ en mg/L} = \frac{C}{V} \times 1\,000$$

C = Milligrammes de NA_4EDTA contenus dans la prise d'échantillon.

V = Volume de la prise d'échantillon (mL).

Remarque

Les polyphosphates interfèrent. Pour des concentrations jusqu'à 12 mg/L, l'interférence peut être éliminée par l'addition de 1 mL de solution de nitrate de thorium à 2,38 g/L dans l'échantillon et l'essai à blanc, à effectuer avant celle des autres réactifs.

3.6.2 Sels tétrasodiques de l'EDTA non chélaté

La méthode convient aux eaux dont la concentration en Na_4EDTA non chélaté est comprise entre 1 et 50 mg/L.

■ Principe

L'éthylènediamine tétracétate tétrasodique est dosé par une solution titrée de magnésium qui donne une coloration rouge avec le noir ériochrome, utilisé comme indicateur.

☐ Prélèvement

Le temps de conservation entre le prélèvement et l'analyse doit être réduit au minimum, inférieur à 15 min à cause du risque d'oxydation ou de décomposition de certains composés. Si ce délai ne peut pas être respecté, utiliser un système qui empêche le contact avec l'air.

☐ Réactifs

– Solution tampon *p*H 10 :

solution concentrée d'hydroxyde d'ammonium (*d* = 0,9)	250 mL
eau déionisée	750 mL
acide chlorhydrique	*q.s.p.* *p*H 10

Mélanger l'hydroxyde d'ammonium et l'eau, ajouter environ 50 mL d'acide chlorhydrique, ajuster le *p*H à 10.

– Solution de noir ériochrome :

noir ériochrome	1,2 g
triéthanolamine à 98 % $(HOCH_2CH_2)_3N$	200 mL
alcool éthylique anhydre	80 mL

Mélanger et transvaser dans un flacon en verre inactinique. Cette solution est stable 2 mois.

– Solution titrée de magnésium :

sulfate de magnésium anhydre	0,3166 g
eau déionisée	*q.s.p.* 1 L

1 mL de cette solution correspond à 1 mg de Na_4EDTA.

– Solution fille titrée de magnésium.

Diluer au 1/10 la solution précédente 1 mL de cette solution correspond 0,1 mg de Na_4EDTA.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau à analyser dans une capsule de porcelaine blanche. Ajouter 5 mL de solution tampon, mélanger avec soin. Ajouter 5 mL de noir ériochrome. Si la coloration est bleue, titrer l'échantillon en maintenant une agitation au moyen d'un agitateur magnétique, avec une solution titrée de magnésium. Utiliser la solution mère pour des concentrations de 1 à 10 mg de Na_4EDTA dans la prise d'échantillon et la solution fille pour des concentrations de 0,1 à 1 mg/L.

Expression des résultats

La teneur en Na_4EDTA non chélaté, exprimée en milligrammes par litre est obtenue à partir de l'expression :

$$Na_4EDTA \text{ en mg/L} = \frac{C}{V} \times 1\,000$$

C = Nombre de millilitres de solution titrée de magnésium.

V = Volume de la prise d'échantillon (mL).

Remarques

– Le fer, le cuivre et le manganèse interfèrent.

– Les complexes EDTA – métaux lourds peuvent être oxydés rapidement au contact de l'air atmosphérique avec comme conséquence une libération de l'EDTA qui est alors dosé.

– D'autres agents chélatants peuvent réagir de la même manière que l'EDTA.

3.7 Huiles émulsifiées

Les huiles émulsifiées, dites aussi huiles solubles (huiles de coupe), sont utilisées en particulier au cours des opérations mécaniques de découpage et de façonnage des pièces métalliques ; elles combinent les propriétés de refroidissement de l'eau et celles de lubrification de l'huile tout en permettant l'entraînement des débris métalliques. Elles sont généralement obtenues par addition d'un agent de surface qui émulsionne l'huile minérale ou sulfonée dans l'eau.

Principe

La partie huileuse des huiles émulsifiées est séparée par filtration après acidification et relargage avec du chlorure de sodium. Le dépôt récupéré est ensuite épuisé par un solvant, l'hexane, et les huiles sont dosées gravimétriquement après évaporation du solvant.

Réactifs

– Acide chlorhydrique.

– Silice de diatomées.

– Chlorure de sodium.

– Sulfate de sodium anhydre.

– Hexane.

Mode opératoire

Traitement de l'échantillon

Verser 1 litre d'eau à analyser dans une éprouvette graduée et acidifier par 10 mL d'acide chlorhydrique (*p*H voisine de 1). Ajouter 300 g de chlorure de sodium. Agiter soigneusement et laisser reposer 12 heures. Ajouter 1 g de silice de diatomées et agiter 2 minutes. Filtrer sous vide en utilisant un filtre Büchner et un papier filtre (type Whatman 40) préalablement humidifié avec un peu d'eau permutée. Récupérer le papier en le pliant pour réduire le plus possible son volume et l'introduire dans un tube à extraction. Nettoyer soigneusement toute la verrerie utilisée y compris le filtre Büchner avec deux tampons de coton, le premier employé sec, le second humidifié à l'aide d'hexane en ayant soin de bien prélever toutes les traces de graisse et les particules solides. Joindre ces cotons au filtre. Dessécher le tube extracteur à l'étuve à 105 °C pendant 45 minutes en le maintenant verticalement.

Nettoyage du matériel

Rincer le récipient ayant servi à prélever l'échantillon avec 20 mL d'hexane. Transvaser ce liquide de lavage dans une ampoule à décantation. Soutirer la phase organique dans un bécher sec de 150 mL. Si le filtrat obtenu après passage au filtre Büchner est opalescent, il est probable que des graisses et des huiles solubles n'ont pas été retenues sur ce filtre. Procéder alors comme indiqué au paragraphe ci-après. Si au contraire le liquide est clair et exempt d'huiles et de graisses, l'éliminer. Rincer alors la fiole à vide avec 20 mL d'hexane et les réutiliser pour rincer le récipient ayant servi à l'agitation. Mélanger et transférer ces liquides dans un petit bécher. Recommencer cette dernière opération de rinçage avec 20 mL d'hexane et les joindre aux précédents dans une ampoule à décantation. Soutirer la phase organique et la réunir à la fraction précédemment mise de côté dans le bécher de 150 mL. Rejeter la phase aqueuse. Rincer l'ampoule à décantation avec 20 mL d'hexane et ajouter ce dernier liquide de lavage aux autres dans le bécher de 150 mL.

Traitement du filtrat opalescent

Si le filtrat est opalescent, l'introduire dans une ampoule à décantation de 2 litres. Faire passer 20 mL d'hexane dans la fiole à vide, puis dans le tube à agitation. Verser ensuite ce liquide de lavage dans l'ampoule à décantation de 2 litres. Agiter 2 minutes. Laisser reposer 2 minutes. Soutirer la phase organique et l'introduire dans le bécher de 150 mL contenant l'hexane ayant servi à rincer le récipient du prélèvement. Rincer à nouveau le tube à agitation avec 20 mL d'hexane et les transférer dans l'ampoule à décantation de 2 litres. Agiter à nouveau 2 minutes. Soutirer la phase organique et la réunir à la précédente dans le bécher de 150 mL. Répéter ces opérations au moins trois fois avec à chaque fois 20 mL d'hexane jusqu'à ce que la phase organique reste incolore. Dessécher le liquide d'extraction en le faisant passer sur un papier filtre tapissé de 1 g de sulfate de sodium anhydre. Recueillir le filtrat dans un bécher de 250 mL. En cas de coloration persistante, filtrer à nouveau, sur un papier filtre contenant 1 g de sulfate de sodium anhydre. Lorsque le filtrat est clair et parfaitement desséché, l'introduire dans un récipient à distillation de 250 mL préalablement séché et pesé.

Si nécessaire, compléter le volume à 100 mL avec de l'hexane . Cette addition n'est pas nécessaire si on a réalisé six extractions.

Extraction au Soxhlet et distillation

Retirer le tube à extraction de l'étuve et le remplir de billes de verre puis l'introduire dans le logement du Soxhlet. Fixer le ballon à distiller contenant les différents volumes d'hexane récupérés. Conduire l'extraction pour obtenir six reflux par heure et poursuivre l'opération pendant 2 à 3 heures selon la quantité de graisse ou d'huile visible sur le filtre. Démonter l'appareil et relier le ballon à un appareil à distiller. Effectuer ensuite une distillation normale en récupérant l'hexane dans un récipient propre et sec pour réutilisation éventuelle. Lorsque la distillation est terminée, enlever les dernières traces d'hexane en maintenant le vide 60 minutes à la température de la pièce. Nettoyer soigneusement l'extérieur du ballon à distiller à l'aide de coton en ayant soin d'éliminer toutes les traces de doigts. Placer au dessiccateur pendant au moins 30 minutes et peser. Recommencer la pesée le jour suivant pour noter les pertes éventuelles.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'échantillon de 1 litre, la quantité de graisses et d'huiles, exprimée en milligrammes par litre, est égale à :

$$A - B$$

A = Masse du vase à distillation contenant le résidu (mg).

B = Masse du vase à distillation sans le résidu (mg).

> **Remarque**
> Si le volume de l'échantillon est supérieur à 1 litre, augmenter les quantités de réactifs en proportion.

3.8 Hydrazine

Utilisé comme réducteur dans l'industrie chimique, dans les carburants pour l'aérospatiale et dans les eaux de chaudières l'oxygène dissous, ce composé peut être présent dans certaines eaux résiduaires.

Son dosage spectrométrique à la paradiméthylaminobenzaldéhyde convient bien pour le contrôle des teneurs de 0,5 à 1 mg/L habituellement utilisées dans l'eau des chaudières à production de vapeur ; pour des teneurs plus élevées, il convient de diluer ou d'utiliser la méthode à l'iodate en milieu acide. D'une façon générale, le dosage doit être pratiqué très rapidement après le prélèvement en évitant l'oxydation.

■ Principe

En milieu acide la paradiméthylaminobenzaldéhyde donne une coloration jaune orangée susceptible d'un dosage spectrométrique.

□ Réactifs

– Acide chlorhydrique (d = 1,19).

– Solution alcoolique de *p*-diméthylaminobenzaldéhyde :

p -diméthylaminobenzaldéhyde		100 g
alcool éthylique pur	*q.s.p.*	1 000 mL

Conserver en flacon teinté.

– Solution mère étalon d'hydrazine à 1 g/L :

sulfate d'hydrazine		4,0625 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution fille étalon d'hydrazine à 10 mg/L :

solution mère		10 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées, introduire successivement :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon d'hydrazine à 10 mg/L (mL)	0	2	4	6	8	10
Eau déionisée (mL)	100	98	96	94	92	90
Acide chlorhydrique concentré (mL)	2	2	2	2	2	2
Solution de *p*-diméthylamino-benzaldéhyde (mL)	2	2	2	2	2	2
Correspondance en milligramme d'hydrazine par litre	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1

Mélanger et, après 10 minutes, effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 450 nm en tenant compte de la valeur du témoin. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Additionner 100 mL d'eau de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré. Mélanger. Introduire 2 mL de solution saturée de *p*-diméthylaminobenzaldéhyde. Agiter. Après 10 minutes, effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 450 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 mL la courbe donne la teneur en hydrazine exprimée en mg/L.

Remarques

– La précision de la méthode est de l'ordre de 2 %.

– La réaction est spécifique et n'est pas gênée par l'ammoniaque, l'hydroxylamine, l'urée et les polyphénols.

– L'acide sulfurique dilué au 1/2 peut être utilisé à la place de l'acide chlorhydrique.

3.9 Hydrocarbures

Les pétroles bruts sont formés de trois grandes catégories de composés (alcanes, aromatiques légers, aromatiques lnourds) (cf. § A-10.18). Un certain nombre de méthodes de dosage ont été mises au point et utilisées (notamment par les industries pétrolières). Pour les eaux naturelles, la méthode par chromatographie gazeuse (cf. A-10.18.2) est la seule utilisée aujourd'hui par les laboratoires. La méthode par spectrométrie infrarouge après extraction au tétrachlorure de carbone (cf. § A-10.18.1), bien que très pratique, n'est plus pratiquée à cause de l'interdiction d'utilisation du solvant chloré.

Une méthode gravimétrique peut être pratiquée dans certains cas de pollution importante.

Dans le cas d'un accident de pollution, les quantités d'hydrocarbures sont importantes, il est possible de pratiquer une extraction par un solvant organique, puis une pesée du résidu après évaporation du solvant. On peut employer l'hexane, le chloroforme ou l'éther de pétrole, les pourcentages de récupération étant différents selon le solvant utilisé.

L'évaporation du solvant pouvant conduire à des pertes par entraînement azéotropique, la méthode n'est satisfaisante que pour des hydrocarbures ayant plus de 12 atomes de carbone par molécule (P.E. supérieur à 220 °C environ).

3.10 Matières organiques extractibles (huiles, graisses)

Les huiles et les graisses retrouvées dans l'eau sont très souvent sous forme d'émulsions ou saponifiées sous l'action de produits chimiques, de détergents, etc.

Il est bien connu que la présence de graisses et d'huiles constitue une gêne considérable pour le fonctionnement normal des stations de traitement des eaux usées. Indépendamment de l'origine domestique, une partie de ces produits peut provenir de rejets intempestifs qu'il peut être utile de dépister dans certains secteurs de collecte des eaux usées. Des matières grasses peuvent aussi provenir de la biomasse. Les huiles et les graisses ayant tendance à être réparties en surface, il est indispensable de prélever des échantillons représentatifs dans des récipients soigneusement dégraissés et incomplètement remplis. Étant donné les altérations d'origine microbienne, il est recommandé de pratiquer le dosage rapidement ; une acidification par quelques millilitres d'acide chlorhydrique facilite la conservation.

Parmi les méthodes d'extraction, on peut distinguer l'extraction par le trichloroéthylène, solvant aujourd'hui interdit dans les laboratoires et qui est remplacé par l'hexane.

3.10.1 Méthode par extraction par le trichloroéthylène

Pour plus d'informations sur cette méthode, se reporter aux suppléments en ligne de l'ouvrage (www.dunod.com).

3.10.2 Méthode par extraction par l'hexane

Pour plus d'informations sur cette méthode, reportez-vous aux supléments en ligne de l'ouvrage (www.dunod.com).

Méthode de référence

AFNOR NF T90-202 (février 2001). Essais des eaux – Effluents aqueux des raffineries de pétrole – Dosage des matières organiques en suspension dans l'eau extractibles à l'hexane.

3.11 Métaux lourds et minéraux divers

Les métaux lourds sont les éléments les plus nocifs dans les eaux résiduaires, notamment dans les boues où ils sont accumulés pendant les différentes phases de l'épuration. Leur origine est avant tout industrielle mais aussi diffuse (corrosion des tuyauteries). Les métaux les plus fréquemment retrouvés dans les eaux résiduaires sont le fer (cf. § A-7.26), l'aluminium (cf. § A-7.2), le cuivre (cf. § A-7.23), le zinc (cf. § A-7.60), le cadmium (cf. § A-7.13), le chrome (cf. § A-7.21), le plomb (cf. § A-7.41), le mercure (cf. § A-7.35) et le nickel (cf. § A-7.37).

Les méthodes de dosage utilisées pour les eaux naturelles sont évidemment applicables aux eaux résiduaires. Toutefois, l'échantillon doit être minéralisé avant analyse. En effet les métaux et autres minéraux divers peuvent être sous forme dissoutes libres ou dissoutes complexées (notamment) avec les matières organiques, mais aussi sous forme de solides métalliques (précipités d'oxo-hydroxydes, d'hydroxydes amorphes, de complexes divers) ou adsorbés sur des matières en suspension.

■ Dosages sur l'échantillon total

Le traitement de l'échantillon est destiné à détruire la matière organique (minéralisation sous forme d'anhydride carbonique azote et eau) et à solubiliser les métaux qui deviendront ionisés. Dans les cas les plus courants, pratiquer une simple digestion à chaud en milieu nitrique et sulfurique. Si les matières organiques sont abondantes ou si leur digestion est difficile, effectuer alors une minéralisation nitro-perchlorique.

Pour de faibles teneurs, ces diverses opérations peuvent être accompagnées d'une concentration par évaporation.

Minéralisation sulfo-nitrique

Acidifier 100 mL de l'échantillon représentatif avec 2 mL d'acide sulfurique concentré et en présence de méthyl orange puis ajouter 10 mL d'acide nitrique concentré. Dans le cas du dosage du chrome, introduire au moins 2 mL d'eau oxygénée à 30 %. Évaporer ensuite sur une plaque chauffante et réduire le volume à 10mL environ. Ajouter à nouveau 10 mL d'acide nitrique concentré. Un témoin doit être réalisé avec les mêmes quantités d'acides. Évaporer jusqu'à l'apparition de fumées blanches. Recommencer l'addition d'acide nitrique et l'évaporation si la solution n'est pas claire et si le dépôt (silice) est coloré. Refroidir, dissoudre le résidu avec de l'eau permutée et filtrer.

Minéralisation nitro-sulfo-perchlorique

L'attaque des matières organiques est plus rapide avec un mélange d'acide sulfurique (1 partie), d'acide nitrique (10 parties) et d'acide perchlorique (2 parties). L'acide sulfurique évite la siccité ; l'acide nitrique empêche une réaction trop brutale entre les matières organiques réductrices et l'acide perchlorique oxydant (risque de transformation en chlorates). Éviter de chauffer à sec. Un témoin doit être utilisé avec les mêmes quantités d'acides.

■ Dosage sur les différentes phases de l'échantillon

Après séparation de l'insoluble par filtration, chacune des phases est traitée individuellement :

– le filtrat suivant les méthodes décrites ci-dessus ;

– le résidu selon celle décrite ci-dessous.

Sécher le résidu puis le minéraliser au four à 450-500 °C. Reprendre les cendres par l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à dissolution à froid et si nécessaire, à chaud ; la silice peut être volatilisée en présence d'acide fluorhydrique sous forme d'acide hydrofluosilicique.

3.12 Morpholine

La morpholine est utilisée pour lutter contre la corrosion dans les chaudières à production de vapeur et les circuits de distribution. Elle agit en neutralisant les composés gazeux acides.

■ Principe

Le sulfure de carbone forme à *p*H 9,5 avec la morpholine un thiocarbonate qui donne, avec un excès de cuivre, un complexe coloré (ambré à brun). L'intensité de la coloration, proportionnelle à la teneur en morpholine se prête à un dosage spectrométrique.

☐ Matériel spécial

– Spectrophotomètre.

– Agitateur à va-et-vient permettant 280 oscillations par minute.

– Compte-gouttes d'une ouverture de 3 mm.

☐ Réactifs

– Sulfure de carbone (CS_2).

– Solution de sulfate de cuivre à 2 g/L :

sulfate de cuivre ($CuSO_4$, 5 H_2O)		2 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution de formaldéhyde (HCHO) à 37 %.

– Solution d'acide chlorhydrique 0,5 *N*.

– Solution alcoolique de rouge de méthyle à 0,1 %.

– Solution saturée de borate de sodium à 40 g/L :

borate de sodium ($Na_2B_4O_7$10 H_2O)		40 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Ajuster le *p*H de la solution à 9,5 avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,5 *N*.

– Agent mouillant Triton X 100 ou similaire.

– Solution étalon de morpholine à 1 g/L :

morpholine à 91 %		1,099 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution étalon fille de morpholine à 100 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, effectuer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon de morpholine à 100 mg/L (mL)	0	1	2	3	4	5
Eau déionisée (mL)	100	99	98	97	96	95
Correspondance en mg/L de morpholine	0	1	2	3	4	5

Poursuivre comme pour le mode opératoire.

Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau à analyser dans une fiole conique de 250 mL, munie d'un bouchon. Ajouter 1 goutte de formaldéhyde. Agiter vigoureusement 15 s. Ajouter successivement 5 mL de solution de borate de sodium et 2 gouttes de sulfure de carbone.

Placer la fiole sur un agitateur à va-et-vient, agiter pendant 15 min. Ajouter alors une goutte de solution de sulfate de cuivre. Agiter à la main 30 s. Laisser reposer 1 min et ajouter 1 goutte d'agent mouillant. Replacer la fiole sur l'agitateur 4 min. Transvaser dans une ampoule à décanter de 125 mL. Après 1 min de repos, agiter vigoureusement à la main 5 s, laisser en attente 1 min. Soutirer l'échantillon, effectuer la lecture au spectromètre à 430 nm dans un laps de temps compris entre 3 et 5 min. Préparer un témoin en traitant un échantillon d'eau de la même manière mais sans l'ajout de sulfure de carbone. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'échantillon de 100 mL, la courbe donne directement la teneur en morpholine exprimée en milligrammes par litre.

Remarques

– L'addition de formaldéhyde élimine l'interférence de l'hydrazine.

– Les amines aliphatiques à longue chaîne, les amines primaires, secondaires et tertiaires à chaîne courte interfèrent.

– Si la morpholine n'est pas titrée à 91 %, utiliser un facteur de correction pour la préparation de la solution étalon après avoir vérifié le titre de la morpholine en opérant ainsi. Introduire 50 mL d'acide chlorhydrique 0,5 *N* dans une fiole conique de 250 mL. Ajouter 1 g de solution de rouge de méthyle. Ajouter 2 g de morpholine, agiter la fiole. Observer la couleur qui doit être de rose à rouge. Une coloration jaune indique que la prise d'échantillon est trop importante.

Porter la solution à douce ébullition pendant 1 min environ pour éliminer le dioxyde de carbone. Titrer aussitôt par une solution d'hydroxyde de sodium 0,5 *N* jusqu'à apparition d'une coloration jaune. Calculer le pourcentage de morpholine de la façon suivante :

$$\text{Morpholine } \% = (Aa) - (Bb) \times 8{,}712/S$$

A = mL d'acide chlorhydrique 0,5 *N* utilisés.

a = Normalité de la solution d'acide chlorhydrique.

B = Nombre de mL de solution d'hydroxyde de sodium utilisés.

b = Normalité de la solution d'hydroxyde de sodium.

S = Masse en g d'échantillon.

3.13 Phénols

Se reporter aux méthodes de dosage des composés phénoliques dans les eaux naturelles (A-10.25). Les observations générales faites pour le dosage de ces produits sont aussi valables pour les eaux résiduaires.

En raison de l'oxydation biochimique des composés phénoliques, effectuer l'analyse dans les 12 heures qui suivent le prélèvement. Cependant, si l'échantillon est additionné de 1 g de sulfate de cuivre par litre, il peut se conserver à 4 °C pendant une semaine. Le cuivre a pour but d'éviter la dégradation bactérienne, en même temps qu'il élimine l'interférence due aux sulfures. Son action est renforcée par la stabilisation préalable du milieu grâce à l'acidification (pH 4) au moyen d'acide phosphorique. En outre, ce dernier limite les modifications chimiques liées à l'alcalinité du milieu.

Toutefois, si l'échantillon contient des graisses, ne pas ajouter de sulfate de cuivre mais acidifier.

3.14 Soufre réducteur

Les composés soufrés réducteurs sont importants dans le contrôle analytique des eaux résiduaires notamment anciennes ou stagnantes, c'est-à-dire quand l'effluent devient septique (cf. § D-2.7). En présence de sulfates et autres composés soufrés, cette septicité peut conduire à la formation de sulfures et provoquer le dégagement d'hydrogène sulfuré, à l'origine non seulement d'odeur nauséabonde mais de corrosion du réseau.

Les méthodes de dosage des composés soufrés (hydrogène sulfuré libre, sulfures, polysulfures, sulfites, thiosulfate) sont décrites dans la partie « Analyse physico-chimique des eaux naturelles ». Les méthodes décrites ci-dessous sont particulièrement adaptées à l'analyse des eaux résiduaires.

3.14.1 Composés soufrés réducteurs par titrimétrie

L'utilisation du soufre et de ses composés réducteurs étant assez courante dans l'industrie, il peut être nécessaire de contrôler les opérations d'oxydation qui sont pratiquées pour conduire à l'obtention de sulfates et de thiosulfates.

■ Principe

La méthode permet :

– de séparer les sulfures par précipitation au moyen d'une solution fraîchement préparée de carbonate de zinc ;

– de doser alors les thiosulfates par iodométrie après formation d'un composé disulfite-aldéhyde avec le formaldéhyde ;

– de doser la somme des sulfites et des thiosulfates par iodométrie et d'en déduire la teneur en sulfites ;

– de déterminer la somme des sulfures, sulfites et thiosulfates.

Les trois réactions utilisées sont :

$$S^{2-} + I_3^- \rightleftharpoons S + 3\ I^-$$
$$SO_3^{2-} + I_3^- + H_2O \rightleftharpoons SO_4^{2-} + 3\ I^- + 2\ H^+$$
$$2\ S_2O_3^{2-} + I_3^- \rightleftharpoons S_4O_6^{2-} + 3\ I^-$$

☐ Réactifs

– Solution de sulfate de zinc à 200 g/L.
– Solution de carbonate de sodium à 100 g/L.
– Suspension de carbonate de zinc :

solution de sulfate de zinc	20 mL
sulfate de carbonate de sodium	20 mL

Agiter vigoureusement. Cette solution est à préparer extemporanément pour éviter la coprécipitation des sulfites et thiosulfates avec le sulfure de zinc.
– Glycérine.
– Acide sulfurique dilué à 10 %.
– Solution de formaldéhyde à 35 %.
– Solution d'iode 0,1 *N*.
– Solution de thiosulfate de sodium 0,1 *N*.
– Solution d'amidon soluble à 10 g/L.

■ Mode opératoire

Dosage des thiosulfates

Les teneurs étant très variables, le volume de la prise d'essai sera fonction des concentrations. Dans une fiole jaugée de 250 mL, introduire *V* (par exemple 25 mL) d'eau à analyser. Ajouter 10 mL de glycérine et compléter à 150 mL avec de l'eau permutée. Ajouter 20 mL de suspension de carbonate de zinc et compléter à 250 mL. Bien mélanger. Filtrer environ 100 mL sur papier filtre plissé. Transférer 25 mL du filtrat dans une fiole conique de 250 mL et ajouter 5 mL de solution de formaldéhyde. Acidifier avec 20 mL d'acide sulfurique dilué à 10 % et titrer immédiatement les thiosulfates par la solution d'iode 0,1 *N*, jusqu'au virage de la solution d'amidon. Soit *X* le nombre de millilitres utilisés.

Dosage des thiosulfates et des sulfites

Dans une fiole conique de 250 mL, verser 50 mL d'eau permutée et 20 mL d'acide sulfurique dilué à 10 %. Ajouter un excès exactement mesuré de solution d'iode 0,1 N (X_1). Introduire 25 mL du filtrat précédent. Titrer en retour par la solution de thiosulfate de sodium en présence de solution d'amidon. Soit Y_1 le volume utilisé.

Dosage des thiosulfates, sulfites et sulfures

Dans une fiole conique de 250 mL, verser 50 mL d'eau permutée et 20 mL d'acide sulfurique dilué à 10 %. Ajouter un excès exactement mesuré de solution d'iode 0,1 N (X_2). Introduire 50 mL d'eau à analyser non traitée. Titrer en retour par la solution de thiosulfate de sodium en présence de solution d'amidon. Soit Y_2 le volume utilisé.

■ Expression des résultats

Si D est la dilution pratiquée, la teneur en thiosulfates exprimée en milligrammes de soufre par litre, est égale à :

$$S_{\text{thiosulfates}} = \frac{X \times 1{,}6 \times 1\,000}{25\,D}$$

La teneur en sulfites exprimée en milligrammes de soufre par litre est égale à :

$$S_{\text{sulfites}} = \frac{(X_1 - Y_1)\,1{,}6 \times 1\,000}{25\,D} - S_{\text{thiosulfates}}$$

La teneur en sulfures exprimée en milligrammes de soufre par litre est égale à :

$$S_{\text{sulfures}} = \frac{(X_2 - Y_2)\,1{,}6 \times 1\,000}{50} - \frac{(X_1 - Y_1)\,1{,}6 \times 1\,000}{25\,D}$$

Remarque

Prendre toutes les précautions indispensables pour éviter des phénomènes d'oxydation par l'air.

3.14.2 Sulfures par méthode iodométrique

■ Principe

Après acidification de l'échantillon, les sulfures sont déplacés sous forme d'hydrogène sulfuré par un gaz inerte et recueillis dans une solution d'acétate de zinc. L'iode utilisé en excès, réagit sur la suspension de sulfure de zinc dans certaines conditions d'acidité. L'excès d'iode, titré par une solution de thiosulfate de sodium permet de calculer la quantité de sulfures.

□ Prélèvement

Effectuer le prélèvement en évitant le plus possible son aération. Il est recommandé d'entreprendre le dosage dans les 3 minutes qui suivent le prélèvement, ou d'ajouter 2 mL/L de solution d'acétate de zinc pour le conserver.

☐ **Matériel spécial**

– Flacon à réaction :

Barboteur de 1 litre avec un bouchon à deux trous, équipé d'un diffuseur et d'un tube de sortie de gaz.

– Flacon absorbeur :

Fiole conique de 250 mL avec un bouchon à deux trous, équipé de tubes de verre et de dispositifs permettant de faire passer le gaz en série.

☐ **Réactifs**

– Gaz inerte : anhydride carbonique ou azote.

– Acide sulfurique concentré.

– Acide chlorhydrique concentré.

– Solution d'acétate de zinc 2 *N* :

acétate de zinc Zn $(C_2H_3O_2)_2$, 2 H_2O	220 g
eau déionisée	870 mL

Dissoudre l'acétate de zinc dans l'eau, ajuster le volume à 1 litre.

– Solution d'amidon.

Verser 5 g d'amidon mis en suspension dans un peu d'eau froide dans 800 mL environ d'eau bouillante. Diluer à 1 litre, porter à l'ébullition 5 minutes puis laisser reposer toute la nuit. Prélever le surnageant clair. Pour conserver la solution, ajouter 1,25 g d'acide salicylique ou quelques gouttes de toluène.

– Solution d'iode 0,025 *N*.

Dissoudre 20 à 25 g d'iodure de potassium dans un peu d'eau déionisée puis ajouter 3,175 g d'iode. Après dissolution de l'iode, ajuster le volume à 1 litre et étalonner la solution avec une solution de thiosulfate de sodium 0,025 *N* en utilisant une solution d'amidon comme indicateur.

– Solution de thiosulfate de sodium 0,025 *N*.

Dissoudre 6,205 g de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$, 5 H_2O) dans de l'eau déionisée fraîchement bouillie et refroidie, ajuster le volume à 1 litre.

Pour conserver la solution, ajouter par litre 5 mL de chloroforme ou 0,4 g de soude ou encore 4 g de borate et 5 à 10 mg d'iodure mercurique.

■ Mode opératoire

Placer dans deux flacons absorbeurs 5 mL de solution d'acétate de zinc et 95 mL d'eau. Relier le flacon à réaction aux deux flacons absorbeurs, faire passer le gaz inerte pendant 2 minutes. Introduire 50 mL d'échantillon dans le flacon à réaction et environ 400 mL d'eau permutée ; acidifier avec 10 mL d'acide sulfurique concentré. Faire barboter le gaz inerte dans l'échantillon pendant 1 heure. Ajouter ensuite à la solution d'acétate de zinc, un grand excès de solution d'iode (1 mL de solution d'iode 0,025 *N* correspond à 0,4 mg de soufre) soit n_1 millilitres, en réservant la presque totalité du volume pour le premier flacon.

Introduire 2,5 mL d'acide chlorhydrique concentré dans chaque flacon.

Transvaser les 2 solutions dans un seul bécher et titrer avec la solution de thiosulfate de sodium 0,025 *N* en présence d'amidon, soit n_2 le nombre de millilitres. Faire un témoin avec les réactifs, en particulier en présence de faibles teneurs en sulfures.

Expression des résultats

La teneur en sulfures totaux, exprimée en milligrammes de soufre par kilogramme est donnée par la formule :

$$S\ (mg/kg) = \frac{(n_1 - n_2) \times 400}{\text{masse d'échantillon en grammes}}$$

Remarques

– Pour déplacer tous les sulfures, il peut être nécessaire de faire passer le gaz inerte plus de 1 heure.

– Cette méthode permet de doser des quantités supérieures à 1 mg/L.

– Les sulfures totaux comprennent H_2S dissous, HS^- et les sulfures métalliques, solubles dans les acides, présents dans les matières en suspension. Les sulfures insolubles dans les acides ne sont pas dosés par cette méthode. Le sulfure de cuivre est le seul sulfure de cette catégorie habituellement rencontré.

– Les interférences proviennent de composés tels que sulfites, thiosulfates et hydrosulfites ou de substances réagissant sur l'iode.

– Cette méthode peut s'appliquer à des échantillons de sédiments, de vases et de boues, etc. ; remplacer alors les 500 mL d'eau par une quantité aliquote de boues, mettre en suspension l'échantillon dans 400 mL d'eau et ajouter l'acide sulfurique tout en maintenant l'agitation.

– Étant donné la grande instabilité des sulfures, il convient, lors du prélèvement, d'introduire dans le flacon un excès de solution d'iode 0,1 *N* dont la quantité résiduelle sera dosée au laboratoire, ceci étant surtout valable lorsqu'il n'y a que de l'hydrogène sulfuré.

3.14.3 Sulfures par méthode potentiométrique

Principe

Après acidification de l'échantillon, les sulfures sont déplacés sous forme d'hydrogène sulfuré par un gaz inerte et recueillis dans une solution d'hydroxyde de potassium. La mesure de l'activité ionique des sulfures dans des conditions expérimentales bien définies de concentration en ions et de *p*H, permet de déterminer la teneur de ces éléments dans l'eau.

Matériel spécial

– Électrode spécifique des ions S^{2-} avec matériel de mesure et électrode de référence équipée d'un pont à jonction électrolytique.

– Agitateur électromagnétique.

– Flacons à réaction et flacons absorbeurs (se reporter à la méthode iodométrique (B-5.21.1)).

Réactifs

– Solution d'hydroxyde de potassium 0,25 *N* :

hydroxyde de potassium		14 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Acide sulfurique concentré.

– Gaz inerte (azote).

– Solution étalon de sulfure de potassium à 1 g/L de S^{--} :

sulfure de sodium		2,437 g
solution d'hydroxyde de potassium 0,25 *N*	*q.s.p.*	1 000 mL

Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution mère étalon, préparer des séries de dilutions avec la solution d'hydroxyde de potassium comprises entre 0 et 2 mg/L ou 1 et 50 mg/L en tenant compte de la concentration de l'échantillon. Dans un bécher contenant un barreau aimanté, introduire 50 mL des solutions étalons correspondant à la concentration de l'échantillon, agiter au moyen d'un agitateur électromagnétique. Immerger les électrodes, attendre la stabilisation et effectuer la mesure. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Placer dans deux flacons absorbeurs 50 mL de solution d'hydroxyde de potassium. Relier le flacon à réaction aux deux flacons absorbeurs, faire passer le gaz inerte pendant 2 min. Introduire un volume connu d'échantillon d'eau à analyser, compléter le volume à 500 mL avec de l'eau permutée. Acidifier avec 10 mL d'acide sulfurique concentré. Faire barboter le gaz inerte pendant 1 heure. Rassembler les solutions d'hydroxyde de potassium dans une fiole jaugée, rincer les flacons avec de la solution d'hydroxyde de potassium. Poursuivre comme pour la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La teneur en sulfures (S^{2-}) est exprimée en milligrammes par litre d'eau.

Remarques

– La détermination doit être effectuée en milieu basique à pH compris entre 11 et 14.

– L'électrode spécifique doit être vérifiée très souvent, il est nécessaire de la compléter ou de la changer fréquemment.

– L'électrode de référence doit être remplie de solution saturée de chlorure de potassium et le pont de jonction électrolytique de solution d'hydroxyde de potassium 0,5 *N*.

– Lorsque le temps de réponse de l'électrode est trop long, frotter l'extrémité de l'électrode spécifique avec un papier spécial légèrement abrasif, rincer.

– L'électrode présente un effet de mémoire important.

3.14.4 Sulfites

Le sulfite de sodium est assez fréquemment utilisé dans l'industrie comme antiseptique et anti-oxygène pour la prévention de la corrosion, particulièrement des eaux de refroidissement et de chaudières. Les prélèvements doivent être analysés aussi rapidement que possible en évitant la filtration et l'exposition à l'air.

Principe

Les sulfites sont oxydés en présence d'iode et en milieu acide. L'excès d'iode est titré par le thiosulfate de sodium.

☐ **Réactifs**

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L.
– Acide acétique glacial.
– Acide sulfurique dilué au 1/2 (*V*/*V*).
– Solution d'iode 0,025 *N* préparée par dilution au moment de l'emploi.
– Solution de thiosulfate de sodium 0,025 *N* préparée par dilution au moment de l'emploi.

■ Mode opératoire

Eau d'alimentation industrielle

Prélever un volume *V* d'eau à analyser au moyen d'un récipient équipé d'un bouchon à deux trous munis de deux tubes de verre montés de telle sorte que l'air ne puisse pénétrer. Verser 5 mL, mesurés exactement, de solution d'iode 0,025 *N* dans une fiole conique et ajouter 5 mL d'acide acétique. Introduire lentement l'eau à analyser tout en agitant. Verser la quantité nécessaire de solution de thiosulfate de sodium pour obtenir une coloration jaune clair. Ajouter 2 mL de solution d'amidon, puis la quantité nécessaire de solution de thiosulfate pour virer au bleu. Soit n_1 le nombre de millilitres utilisés. Recommencer l'opération en remplaçant l'échantillon par de l'eau permutée. Soit n_2 le nombre de millilitres utilisés pour ce second tirage.

Eau de chaudière

Opérer selon les mêmes conditions en remplaçant l'acide acétique par 0,5 mL d'acide sulfurique dilué au 1/2, en n'utilisant que 100 mL d'eau et en prenant soin que la température ne dépasse pas 26 °C.

■ Expression des résultats

La teneur en sulfites, exprimée en milligrammes de sulfite de sodium par litre d'eau est égale à :

$$\frac{(n_2 - n_1)\ N \times 63 \times 1\,000}{V}$$

N = Titre de la solution de thiosulfate utilisée.

V = Volume de l'échantillon (mL).

Remarque

L'iode en présence d'eau agit comme oxydant mais cette oxydation, comme l'a indiqué Bunsen, n'est pas aussi simple dès que le titre en anhydride sulfureux dépasse 0,40 g/L. Le phénomène est alors réversible. En outre un excès d'anhydride sulfureux peut oxyder l'acide iodhydrique formé d'où la nécessité de faire arriver dans la solution titrée d'iode l'échantillon à doser et d'employer pour toute dilution de l'eau privée d'oxygène par l'ébullition et refroidie à l'abri de l'air, ou par dégazage avec l'azote.

3.15 Thiocyanates

Le dosage des thiocyanates peut être nécessaire dans certains effluents industriels ; en particulier, de fortes teneurs (jusqu'à 250 mg/L) peuvent se rencontrer dans les eaux résiduaires de cokeries. Le traitement de ces

effluents par l'ozone conduit à une augmentation des cyanures par transformation rapide des thiocyanates.

Principe

Comme les cyanures, les thiocyanates réagissent avec la chloramine T pour donner du chlorure de cyanogène qui, en présence de pyridine donne à son tour de l'aldéhyde glutaconique et permet un dosage spectrométrique avec la 1-phényl-3-méthyl-5-pyrazolone. Les cyanures présents dans l'échantillon sont préalablement éliminés.

Prélèvements

Les échantillons ne peuvent être conservés que pendant un temps limité au réfrigérateur après avoir ajusté à pH supérieur à 12.

Réactifs

Se reporter au dosage des cyanures (D-3.5).

Établissement de la courbe d'étalonnage

Se reporter au dosage des cyanures.

Mode opératoire

Éliminer les cyanures par ébullition après acidification de l'échantillon avec de l'acide sulfurique ou par distillation si la concentration en « cyanures totaux » est importante. Se reporter dans ce cas au traitement préliminaire des « cyanures totaux » (D-3.5). Effectuer le dosage spectrométrique des thiocyanates sur le résidu de distillation, en utilisant la méthode décrite pour la détermination des cyanures.

Expression des résultats

La teneur en thiocyanates est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en multipliant le résultat lu sur la courbe, exprimé en mg/L de CN^-, par 2,232 correspondant au facteur de transformation des cyanures en thiocyanates. Éventuellement, tenir compte de la dilution de l'échantillon.

Remarques

– L'interférence due à de faibles teneurs en agents oxydants ou réducteurs peut être éliminée par oxydation par le brome (utilisé en excès, il peut donner du bromure de cyanogène volatil) ou réduction par l'acide arsénieux mais de fortes teneurs de ces produits gênent le dosage, de même que la présence d'amines aromatiques ou la couleur.

– L'acide oxalique, les cyanates $>$ 100 mg/L, les sulfites, le fer (III) $>$ 20 mg/L, les ferrocyanures $>$ 10 mg/L, les ferricyanures $>$ 5 mg/L et le peroxyde d'hydrogène $>$ 3 mg/L interfèrent sur le dosage.

4 • RADIOACTIVITÉ

4.1 Généralités

Le terme radioactivité est utilisé pour décrire les transitions atomiques spontanées qui mettent en jeu les changements d'état des noyaux des atomes. L'énergie dégagée dans ces transitions est émise sous la forme de radiations électromagnétiques ou corpusculaires. La radioactivité peut être naturelle (radon, rayonnements tellurique et cosmique) ou artificielle. Les expositions médicales représentent 38 % de l'exposition de la population aux rayonnements ionisants et les sources industrielles seulement 1 %. Ces dernières sont liées à l'industrie du nucléaire (extraction de l'uranium, fabrication et retraitement du combustible nucléaire, déchets radioactifs) et aux matériaux minéraux riches en radioéléments d'origine naturelle (engrais riches en phosphates, terres rares). La radioactivité et les spectrométries gamma, alpha, bêta de même que les méthodes de dosage des principaux radionucléides sont décrites dans la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles » (§ A-8).

Dans le présent chapitre, seront présentées la problématique et les limites des rejets autorisées des effluents radioactifs dans les installations nucléaires et dans les unités de médecine nucléaire. Pour les méthodes d'analyse, le lecteur pourra se reporter au chapitre A-8.

4.2 Rejets d'effluents radioactifs des installations nucléaires

En 2000 dans sa revue « Contrôle » N° 137, l'Autorité de sûreté nucléaire (ASN) a exposé la problématique des rejets radioactifs ou non des installations nucléaires de base (INB) : centrales nucléaires (EDF), usines (séparation des isotopes de l'uranium, fabrication de combustible, cisaillage des éléments combustibles, retraitement, conditionnement des déchets et effluents…), centres d'études (CEA), centres de stockage des déchets [1]. Les installations nucléaires produisent des déchets indésirables qui sont collectés, triés pour en recycler ou valoriser la majeure partie, traités par concentration, conditionnés, entreposés et stockés. D'autres en très faible proportion, les rejets gazeux ou liquides, ne peuvent être que traités, filtrés, dilués et dispersés dans l'environnement. Les rejets d'effluents radioactifs liquides, qui seront seulement considérés ici parce qu'on les retrouve dans l'eau, concernent surtout le tritium et le carbone 14.

Le tritium, émetteur bêta de très faible énergie et de 12,3 ans de période (sa désintégration produit l'hélium 3), est rencontré dans les effluents

liquides sous forme d'eau tritiée (T-O-H). Sa demi-vie est trop longue pour stocker jusqu'à totale désintégration l'ensemble du tritium produit. Il est donc rejeté dans l'environnement, une solution acceptable puisqu'il ne se concentre pas dans la chaîne alimentaire ni dans le corps humain.

Le carbone 14, émetteur bêta de 5730 ans de période, est formé par des réactions des neutrons sur les noyaux d'azote et d'oxygène contenus à l'état de combinaisons chimiques dans le combustible nucléaire, l'eau du circuit primaire de refroidissement. Le carbone 14 est retrouvé dans l'environnement dans des combinaisons avec les matières organiques.

La diminution des rejets des effluents radioactifs est l'objet de nombreux travaux des instances internationales [2]. L'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) est dotée d'une agence pour l'énergie nucléaire (AEN) comptant 28 pays membres de l'OCDE. Le Comité de l'AEN de protection radiologique et de santé publique (CRPPH) a mis en place en mars 2001 un groupe d'experts sur les implications des diverses options de rejet d'effluents. Les résultats de leurs travaux « se veulent être » des informations de référence pour les spécialistes qui auront à prendre des décisions dans ce domaine. La note de synthèse met en lumière l'application du principe ALARA (niveau le plus faible qu'il soit raisonnablement possible d'atteindre) comme l'un des principes fondamentaux de la radioprotection (Publication 60 de la commission internationale de protection radiologique, CIPR) ayant largement contribué à réduire les rejets d'effluents pour en atténuer l'impact sur l'environnement et le public. Une autre démarche d'optimisation adoptée par plusieurs pays membres de l'AEN suit le concept des meilleures techniques disponibles (MTD) initialement défini pour l'optimisation des rejets d'effluents non radioactifs. En appliquant les MTD aux installations et sources nucléaires, c'est la diminution des concentrations des radionucléides dans l'environnement que l'on recherche [2].

Dans le cadre de la Convention OSPAR (Signée à Paris le 22 septembre 1992, elle remplace les conventions précédentes d'Oslo et de Paris) pour la protection du milieu marin de l'Atlantique du Nord-Est, une stratégie a été définie concernant les rejets de substances radioactives. Elle se donne pour objectif de prévenir la pollution de la zone maritime par les rayonnements ionisants, par des réductions progressives et substantielles des rejets, émissions et pertes de substances radioactives, l'objectif étant d'atteindre des concentrations dans l'environnement qui soient proches des valeurs de fond, pour les substances naturellement radioactives, et proches de zéro, s'il s'agit de substances artificielles (www.ospar.org) [2, 3].

Le Comité scientifique des Nations Unies pour l'étude des effets des rayonnements ionisants (UNSCEAR) recueille des données et évalue régulièrement les rejets d'effluents radioactifs des installations nucléaires [2].

4.2.1 Réglementation – Autorisation des rejets

D'après la loi du 28 juin 2006 de programme relative à la gestion durable des matières et déchets radioactifs et l'article L. 542-1 du code de l'environnement, « la gestion durable des matières et des déchets radioactifs de toute nature, résultant notamment de l'exploitation ou du démantèlement d'installations utilisant des sources ou des matières radioactives, est

assurée dans le respect de la protection de la santé des personnes, de la sécurité et de l'environnement »… « Les producteurs de combustibles usés et de déchets radioactifs sont responsables de ces substances, sans préjudice de la responsabilité de leurs détenteurs en tant que responsables d'activités nucléaires » [4].

Les rejets d'effluents radioactifs liquides par les installations nucléaires de base sont soumis à autorisation [5]. Toutefois, conformément au décret du 4 mai 1995, les rejets, dans les eaux souterraines, d'effluents liquides radioactifs sont interdits.

La demande d'autorisation comprend « un document indiquant, compte tenu des variations saisonnières et climatiques, les incidences de l'opération sur la ressource en eau, le milieu aquatique, l'écoulement, le niveau et la qualité des eaux y compris de ruissellement… » [5]. Le ruissellement des eaux pluviales sur des toitures, aires de stockage, voies de circulation, aires de stationnement et autres surfaces imperméabilisées est en effet susceptible d'entraîner un risque de pollution [6]. « L'autorisation est accordée par arrêté conjoint des ministres chargés de la Santé, de l'Industrie, et de l'Environnement » « Cet arrêté fixe… les limites des prélèvements et des rejets auxquels l'exploitant est autorisé à procéder », etc. Les limites de prélèvements d'eau portent sur la quantité annuelle et la quantité quotidienne prélevées, exprimées respectivement en mètres cubes par an et en mètres cubes par jour, et sur le débit maximal instantané exprimé en mètres cubes par seconde [6]. L'arrêté d'autorisation fixe les limites annuelles des activités rejetées pour les différentes catégories de radioéléments suivantes : le tritium, les iodes radioactifs, le carbone 14, les autres émetteurs bêta et gamma, les émetteurs alpha. Afin d'assurer une diffusion optimale des rejets dans le milieu récepteur (mer, cours d'eau), l'arrêté fixe aussi des limites pour ces catégories de radioéléments, sur le débit d'activité (en becquerels par seconde) au point de rejet et sur l'activité volumique (en becquerels par litre) mesurée après dispersion dans le milieu récepteur [6].

4.2.2 Réglementation. Contrôle et vérifications

Selon le décret du 4 mai 1995 « les installations pour lesquelles des rejets d'effluents sont autorisés ou déclarés doivent disposer des moyens permettant de procéder aux prélèvements et aux **analyses nécessaires** ainsi qu'à leur interprétation. **Le matériel de mesure doit être tenu en état de fonctionnement et régulièrement étalonné** » [5]. Plus précisément, « l'exploitant dispose, sur le site, d'un laboratoire de mesures de radioactivité dans l'environnement et d'un laboratoire de contrôle des effluents radioactifs… physiquement distincts [6]. L'exploitant doit tenir une comptabilité quotidienne et détaillée de ses différents effluents [7]. Par ailleurs, l'article 35 du Traité Euratom requiert que tout État Membre établisse les installations nécessaires pour effectuer le contrôle permanent du taux de radioactivité de l'atmosphère, des eaux et du sol.

La Commission Européenne a le droit de vérifier le fonctionnement et l'efficacité de ces installations, une responsabilité confiée à la Direction Générale Environnement (DG ENV). Un exemple de vérification est la visite par une équipe de la DG ENV en 1999 des installations de surveillance des rejets

radioactifs et de la radioactivité dans l'environnement en fonctionnement normal du centre nucléaire de production d'électricité (CNPE) de Chooz B. Sa situation géographique est quasiment enclavée par le territoire de la Belgique. Il comprend deux tranches nucléaires de puissance unitaire de 1 400 MWe refroidies en circuit fermé par des réfrigérants atmosphériques dont l'appoint est réalisé par prélèvement dans la Meuse. Les effluents radioactifs liquides sont rejetés dans la Meuse après traitement et contrôle et après prédilution dans un ouvrage de mélange recevant l'eau de purge des aéroréfrigérants. Les réservoirs réglementaires de stockage avant rejet des effluents radioactifs permettent une première décroissance de la radioactivité et un étalement dans le temps des rejets [7].

L'Office de Protection contre les Rayonnements Ionisants (OPRI), Etablissement public de l'État, surveille le contrôle et la quantification des rejets d'effluents, le contrôle des équipements et des installations, le contrôle radioécologique et l'évaluation de l'impact sur l'environnement proche du site. L'OPRI effectue ses propres prélèvements, indépendamment des obligations de l'exploitant. Le programme réglementaire pour l'exploitant comporte en particulier des prélèvements d'eau du milieu récepteur (Meuse) et des prélèvements mensuels dans la nappe phréatique à l'intérieur du périmètre du site. Le programme de surveillance indépendante par l'OPRI comporte en particulier, des prélèvements d'eau de pluie en continu pour analyse bêta global ainsi que spectrométrie gamma et des prélèvements de l'eau de la Meuse en amont et en aval du site [7].

4.2.3 Préparation et analyse des échantillons d'effluents liquides

À titre d'exemple, on se réfère au cas du CNPE de Chooz B. Les procédures de préparation des échantillons prélevés sur des réservoirs de stockage avant mesure sont les suivantes [7] :

– acidification par acide nitrique et évaporation sur deux coupelles avant comptage β–α, calibration équivalente Sr-Y pour β, Am-241 pour α ;

– pour le tritium : instagel pour scintillation liquide ;

– pour le Ni-63 : séparation chimique puis dosage par scintillation liquide.

Les collecteurs d'eau de pluie ont une superficie de 0,067 m^2. Pour le premier collecteur, l'analyse se fait sur un échantillon cumulé mensuel par analyse bêta total sur l'eau de pluie après filtrage ainsi que sur les résidus accumulés sur le filtre. Pour le second, l'analyse se fait sur un échantillon cumulé bimestriel (bêta global, Tritium et spectrométrie gamma) [7].

Pour la surveillance environnementale sur un périmètre de 5 000 m, il existe une station pour le prélèvement en continu par EDF de l'eau de la Meuse. Un échantillonneur permet le remplissage séquentiel de 24 flacons par jour (2 litres par heure par flacon) et les prélèvements ne sont analysés qu'en cas de rejet concerté, d'une durée de 48 heures.

Une station Hydrotéléray de l'OPRI pompe également de manière continue l'eau de la Meuse. Elle comprend :

– une cuve en acier inoxydable de 25 litres, blindée par 5 cm de plomb, alimentée en eau par une unité de pompage (débit 2m^3/h),

– une chaîne de mesure autonome avec un détecteur NaI (3″ x 2″) plongeant dans la cuve pour l'analyse de I-131, Cs-137, Co-60 et de l'activité

gamma total avec une très haute sensibilité. Il est intéressant de noter qu'une contamination de la Meuse par l'iode 131, détectée par cette station le 7 septembre 1998, a été provoquée par l'urine d'un patient auquel avaient été administrés quelques centaines de mégabecquerels d'I-131. Elle fournit des spectres d'énergie gamma entre 0,1 MeV et 2 MeV répartis sur 2048 canaux et le nombre total de désintégrations sur quatre plages de mesure :

- de 0,1 MeV à 2 MeV (tous les radioéléments émetteurs gamma) ;
- de 340 keV à 410 keV (Iode 131) ;
- de 600 keV à 750 keV (Césium 137) ;
- de 1130 keV à 1450 keV (Cobalt 60).

Les méthodes de dosage des principaux radioéléments rencontrés dans les eaux résiduaires sont détaillées au chapitre A5 du présent ouvrage.

4.2.4 Limites des rejets radioactifs liquides

Il importe que les limites de rejet autorisées soient aussi faibles que techniquement et économiquement possible, obligeant les exploitants à recourir aux meilleures technologies disponibles à un coût économiquement acceptable, compte tenu de la qualité de l'environnement naturel.

Un premier exemple est celui du centre nucléaire de production d'électricité (CNPE) de Chooz B, pour lequel les limites réglementaires de rejet d'effluents radioactifs liquides sont données dans le tableau 1. Les rejets d'effluents radioactifs liquides sont discontinus et concertés. Le spectre de base comporte : H-3, Mn-54, Co-58, Co-60, Ag-110m, Sb-124, I-131, Cs-134 et Cs-137. Les appareils de mesure sont contrôlés périodiquement à partir de sources étalons fournies par l'OPRI, les équipements de laboratoire et les méthodes d'analyse sont réglementées par l'OPRI [7].

Un exemple plus récent est celui des installations nucléaires de base n° 136 et n° 140 exploitées par Electricité de France (EDF SA) sur les communes de Penly et de Saint-Martin-en-Campagne (Seine-Maritime) [8,9]. Les limites de rejet des effluents liquides sont données dans le tableau 2.

Un autre exemple de limites de rejets radioactifs liquides est celui relatif à l'installation nucléaire de base de conversion de nitrate d'uranyle, dénommée TU 5, sur le site nucléaire de Pierrelatte (Tableau 3) [10].

Tableau 1. Limites de rejets des effluents liquides. CNPE de Chooz [7]

	Chooz A + B
Activités rejetées annuelles	
Somme des radioéléments (excluant le tritium)	222 GBq
Tritium	80 TBq
Activités volumiques moyennes quotidiennes ajoutées à la Meuse, calculées après dilution	
Somme des radioéléments (excluant le tritium)	800 mBq/l
Tritium	80 Bq/l

Tableau 2. Limites de rejets dans l'environnement des effluents liquides des INB n° 136 et n° 140 Penly et Saint-Martin-en Campagne [8,9]

Radioéléments	Limites annuelles en GBq/an
Tritium	40 000 x N_1 + 50 000 x N_2
Carbone 14	190
Iodes	0,1
Autres produits de fission ou d'activation émetteurs bêta ou gamma	25
N_1 est le nombre de réacteurs avec une gestion du combustible autre qu'à haut taux de combustion (HTC), en particulier avec une gestion du type GEMMES. N_2 est le nombre de réacteurs avec une gestion du combustible du type HTC. $N_1 + N_2 = 2$	
Activité volumique moyenne journalière mesurée dans l'environnement (Bq/l) (*)	
Tritium	900 (*)

(*) L'activité volumique moyenne journalière est ramenée à 100 Bq/l en l'absence de rejets radioactifs.

Tableau 3. Limites de rejets radioactifs liquides de l'INB n° 155 exploitée par AREVA NC sur la commune de Pierrelatte (Drôme)

Radioéléments	Limite annuelle en GBq/an
Isotopes de l'uranium	0,9
Transuraniens émetteurs α	0,8
Produits de fission	400
Tritium	11 000
Carbone 14	1

4.2.5 Rejets génériques d'un REP et d'une usine de retraitement

Il paraît utile de donner à titre d'ordre de grandeur des rejets d'effluents radioactifs liquides, les valeurs des « rejets génériques » d'un réacteur à eau pressurisée (REP) et d'une centrale de retraitement [11]. Les rejets annuels d'effluents liquides d'une tranche REP standard de 1 300 MW(e) calculés par l'AEN d'après des données françaises sont récapitulés dans le tableau 4.

Les rejets d'effluents liquides de l'usine de la Hague en 1997 rapportés à 1 GWa sur la base d'un taux de combustion de 30 GWj/tML afin de définir les rejets génériques sont indiqués dans le tableau 5.

Tableau 4. Rejets annuels génériques d'effluents liquides d'un REP [11]

Radionucléide	Rejets annuels (GBq/a)	Rejets annuels normalisés(*) (GBq/GWa)
^{3}H	$1,8 \times 10^{4}$	$1,6 \times 10^{4}$
^{14}C	$1,6 \times 10^{1}$	$1,5 \times 10^{1}$
^{54}Mn	$1,5 \times 10^{-2}$	$1,4 \times 10^{-2}$
^{58}Co	$3,7 \times 10^{-1}$	$3,4 \times 10^{-1}$
^{60}Co	$1,7 \times 10^{-1}$	$1,5 \times 10^{-1}$
^{63}Ni	$4,0 \times 10^{-1}$	$3,7 \times 10^{-1}$
$^{110}Ag^{m}$	$9,5 \times 10^{-2}$	$8,9 \times 10^{-2}$
^{124}Sb	$5,0 \times 10^{-2}$	$4,7 \times 10^{-2}$
^{131}I	$1,5 \times 10^{-2}$	$1,4 \times 10^{-2}$
^{134}Cs	$6,0 \times 10^{-2}$	$5,6 \times 10^{-2}$
^{137}Cs	$1,8 \times 10^{-1}$	$1,6 \times 10^{-1}$

(*) Rejets annuels normalisés sur la base d'une production d'électricité de 1,07 GWa.

Tableau 5. Rejets annuels génériques d'effluents liquides d'une usine de retraitement

Radionucléide	Rejets annuels liquides (GBq/GWa)
^{3}H	$2,6 \times 10^{5}$
^{14}C	$2,1 \times 10^{2}$
^{54}Mn	1,1
^{57}Co	$3,0 \times 10^{-2}$
^{58}Co	$3,6 \times 10^{-1}$
^{60}Co	$1,1 \times 10^{1}$
^{63}Ni	2,9
^{65}Zn	$3,7 \times 10^{-2}$
^{89}Sr	$8,2 \times 10^{-1}$
$^{90}Sr/Y$	$8,2 \times 10^{1}$
$^{95}Zr/Nb$	$8,7 \times 10^{-3}$
^{99}Tc	2,9
$^{106}Ru/Rh$	$4,3 \times 10^{2}$
^{125}Sb	$3,0 \times 10^{1}$
^{129}I	$3,6 \times 10^{1}$
^{134}Cs	4,6
^{137}Cs	$5,4 \times 10^{1}$
U	$1,4 \times 10^{-1}$
^{238}Pu	$2,1 \times 10^{-1}$
^{241}Pu	4,6
^{241}Am	$1,3 \times 10^{-1}$
^{244}Cm	$5,4 \times 10^{-2}$

4.2.6 Impacts temporels de rejets radioactifs en mer

L'élimination en mer des effluents liquides des usines qui retraitent des combustibles irradiés modifie la radioactivité des eaux marines dans l'espace et dans le temps. Les fluctuations de la radioactivité dépendent de l'intensité, de la fréquence et de l'heure des rejets (ils sont effectués aux heures les plus propices en fonction de la force et de la direction du courant de marée), du régime hydrodynamique des eaux (courant anticyclonique, courants cycloniques), des conditions météorologiques… L'étude de la dispersion et de la dilution en mer des effluents liquides de l'usine de La Hague sur la période de 1985 à 1989 a montré en effet que l'effet des rejets pouvait se manifester en deux phases, la première à court terme (de l'ordre de deux semaines après l'émission des rejets), la seconde associée

aux mouvements des masses d'eau sur une période plus longue. L'impact des rejets s'exprime en Becquerel par jour (Bq. l^{-1}) pour un rejet standard de 1 Becquerel par jour (Bq. j^{-1}) [12]. La station d'observation était située à environ 5 km de l'émissaire de rejet des effluents.

Les échantillonnages portent sur 120 litres prélevés à marée haute, en surface. Les échantillons sont traités à pH 3,5 par le bioxyde de manganèse et le ferrocyanure de cobalt-potassium pour obtenir un précipité renfermant les radionucléides dont la radioactivité gamma est mesurée avec des ensembles de spectrométrie de type GeLi, IN90 périodiquement étalonnés. Les radionucléides les plus représentés sont ^{125}Sb de période radioactive $T_{1/2}$ égale à 2,7 ans, ^{106}Ru-^{106}Rh de période radioactive égale à 1 an. Les erreurs de mesure sont inférieures à 15 % ; la précision est moindre pour ^{60}Co et ^{137}Cs. L'impact global pour ces radionucléides était compris entre 2 et 4 x 10^{-13} Bq. l^{-1} par Bq. j^{-1} rejeté.

4.3 Gestion des effluents radioactifs dans les unités de médecine nucléaire

Selon le paragraphe 3.2 de l'annexe II de la circulaire DGS/SD 7 D/DHOS/E 4 n° 2001-323 du 9 juillet 2001 relative à la gestion des effluents et des déchets d'activités de soins contaminés par des radionucléides, une unité de médecine nucléaire peut rejeter des effluents liquides contaminés par des radionucléides provenant des laboratoires de préparation et de manipulation de sources non scellées, des sanitaires de l'unité et des chambres protégées réservées à l'hospitalisation des patients faisant l'objet d'une thérapie cancéreuse. Dans chacun de ces trois cas, les dispositions sont différentes [13].

4.3.1 Rejets liquides radioactifs des laboratoires

Des effluents liquides contenant des radionucléides de période inférieure à 100 jours (technétium 99 m, thallium 201, etc.) peuvent être rejetés par les laboratoires après passage par 2 cuves-tampons de capacité suffisante pour stocker les effluents pendant plusieurs mois afin d'atteindre l'activité suffisamment faible permettant leur rejet dans le réseau général. L'arrêté du 30 octobre 1981 précise que, en sortie des cuves-tampons, l'activité des effluents ne doit pas dépasser 7 Bq/L, une valeur seuil qui n'est pas directement utilisable du fait de la sensibilité des méthodes de mesures disponibles mais qui doit être utilisée pour déterminer, par le calcul, le temps de séjour des effluents dans les cuves [13].

4.3.2 Rejets liquides radioactifs des sanitaires des chambres protégées (dose d'iode d'activité > 740 MBq)

Des doses importantes d'iode 131 (jusqu'à 3 700 MBq) sont administrées à des fins thérapeutiques anticancéreuses aux patients hospitalisés dans des chambres protégées. Dans les deux jours suivant l'administration, ils éliminent dans leurs urines 60 à 80 % de la dose reçue, ce qui rend indis-

pensable la collecte de ces effluents dans des cuves-tampons. L'importante activité volumique des effluents provenant des sanitaires de ces chambres nécessite que ces cuves soient distinctes de celles affectées aux effluents des laboratoires. Pour éviter les risques d'obstruction, les sanitaires peuvent être prévus soit pour séparer les liquides des matières solides qui sont alors dirigées vers le réseau d'assainissement, soit pour permettre le transit des matières sans risque.

Dans le cas où le radioélément rejeté est l'iode 131, avec des activités unitaires importantes, la problématique est différente : la valeur de 7 Bq/l donnée au paragraphe 6.3.1 conduirait à des capacités de stockage très importantes et à des adaptations des installations existantes très lourdes pour un enjeu sanitaire très restreint si l'on se réfère au bénéfice attendu en terme d'impact dosimétrique. En attendant la mise à jour de la réglementation, il est proposé de retenir que la vidange d'une cuve tampon ne peut intervenir que si son activité volumique ne dépasse pas 100 Bq/l.

4.3.3 Rejets liquides radioactifs des sanitaires de l'unité de médecine nucléaire

Il s'agit des sanitaires de l'unité de médecine nucléaire, réservés aux patients injectés et situés hors secteur d'hospitalisation. Ils sont susceptibles de recevoir des radionucléides provenant des urines des patients injectés pour un examen ou ayant reçu une faible dose thérapeutique (moins de 740 MBq) de radioéléments de courte période (surtout du technétium 99 m). Ils sont raccordés au collecteur général de l'établissement hospitalier conduisant à une importante dilution mais une décroissance complémentaire de l'activité doit être obtenue en faisant transiter ces effluents dans une fosse de décroissance (2 m³ minimum pour une fréquentation journalière de 25 personnes), vidangée périodiquement [13].

4.3.4 Activité des effluents à l'émissaire de l'établissement

Afin d'évaluer l'activité de l'ensemble des effluents rejetés, une mesure de l'activité à l'émissaire de l'établissement doit être effectuée régulièrement par l'établissement ou par un organisme délégué. Il s'agit de réaliser soit un bilan sur 8 heures avec un spectromètre, au moins quatre fois par an, sur l'activité en iode et en activité totale, soit un contrôle en continu au moyen d'un détecteur approprié.

Les résultats des mesures seront comparés aux niveaux-guide suivants, 1 000 Bq/l pour le technétium 99 m, 100 Bq/l pour les autres radioéléments. [13]

5 • PARASITOLOGIE

5.1 Dénombrement des œufs d'helminthes dans les eaux usées

■ Principe

Les œufs d'helminthes sont dénombrés dans les eaux usées après concentration par flottation-centrifugation ou sédimentation.

☐ Prélèvement

Effectuer le prélèvement d'eau usée sans aucune précaution particulière, sans addition d'agent de conservation. Conserver et transporter les échantillons à la température ambiante dans les jours qui suivent le prélèvement.

5.1.1 Méthode par sédimentation couplée à la méthode diphasique de BAILENGER (1979)

☐ Matériel spécial

– Centrifugeuse avec tubes à centrifuger.

– Cellules de numération microscopique de 0,3 à 1 mL (disponibles dans le commerce).

☐ Réactifs

– Éther.

– Tampon acéto-acétique *p*H 4,5 :

acétate de sodium		15 g
acide acétique		3,6 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution saturée de sulfate de zinc (d = 1,18) :

sulfate de zinc		33 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

■ Mode opératoire

Agiter le prélèvement d'eau usée, en prélever 1 litre (S) et le laisser décanter 8 à 12 heures. Retirer délicatement le surnageant (sans agiter le sédiment), le rejeter. Transférer la totalité du sédiment dans un tube à centrifuger. Rincer les parois du flacon (*), joindre cette eau de rinçage au sédiment. Centrifuger 15 min à 1 000 g. Éliminer le surnageant. Reprendre le culot de centrifugation

(*) avec 30mL d'eau.

par un volume égal de tampon acéto-acétique, mélanger. Ajouter un volume d'éther égal à 2 fois le volume du tampon. Agiter le mélange pendant 10 min puis centrifuger pendant 6 min à 1 000 g. Éliminer le surnageant et remettre en suspension le culot de centrifugation dans un volume égal à environ 5 fois son volume (soit environ 5 mL) de solution saturée de sulfate de zinc. Mesurer le volume de la suspension, soit *V* mL. À l'aide d'une pipette Pasteur, introduire une aliquote *P* de cette suspension dans une cellule de numération. Compter les œufs sous un grossissement de 100.

■ Expression des résultats

Calculer le nombre d'œufs *N* par litre d'eau usée à partir de la formule suivante :

$$N = \frac{X}{P}\,\frac{V}{S}$$

X = Nombre d'œufs comptés.

P = Volume de suspension introduit dans la cellule de numération.

V = Volume total de la suspension.

S = Volume de l'échantillon d'eau usée.

5.1.2 Méthode par flottation-centrifugation

☐ **Matériel spécial**

– Centrifugeuse avec tubes à centrifugation de 20 mL.

– Flacon de 1,5 L, conique de préférence.

☐ **Réactif**

– Solution de nitrate de sodium à 500 g/L (*P/V*).

■ Mode opératoire

Agiter l'échantillon d'eau usée, en prélever 1 litre, le laisser décanter 8 à 12 heures. Retirer délicatement le surnageant (sans agiter le sédiment), le rejeter. Introduire le sédiment dans une série de tubes de 20 mL à raison de 3 mL par tube. Rincer les parois du flacon avec un pulvérisateur, joindre les eaux de rinçage au sédiment. Centrifuger les tubes 10 min à 700 g. Éliminer le surnageant. Ajouter dans chaque tube 3 mL de solution de nitrate de sodium. Centrifuger 3 min à 1 000 g. Prélever le surnageant où se trouvent maintenant les œufs d'helminthes, et le placer dans le flacon de 1,5 L contenant 1 L d'eau permutée. Recommencer 3 fois l'addition de nitrate de sodium et la suite des opérations. Regrouper les surnageants dans le flacon de 1,5 L, les laisser déposer pendant 8 heures pour permettre aux œufs d'helminthes de sédimenter. Retirer avec soin le surnageant, l'éliminer. Répartir les sédiments et l'eau de rinçage du flacon dans une série de tubes à centrifuger, puis les centrifuger 4 min à 1 000 g. Prélever ensuite au fond de chaque tube, à l'aide d'une pipette Pasteur, 1 mL de culot de centrifugation, le placer dans une cellule de numération. Compter les œufs sous un grossissement de 100.

■ **Expression des résultats**

Le nombre d'œufs dénombrés correspond au nombre total d'œufs contenus dans un litre d'eau usée.

5.2 Dénombrement des œufs d'helminthes dans les boues résiduaires

Les techniques de coprologie humaine et animale ont été appliquées aux boues résiduaires urbaines avec plus ou moins de succès. En effet, les boues constituent un milieu complexe (matières sèches variant de 2 à 50 %, compositions très variables…) et surtout la charge parasitaire est beaucoup plus faible que dans les selles (voie naturelle d'élimination des parasites intestinaux).

5.2.1 Méthodes diphasiques

Les méthodes diphasiques impliquent la mise en présence de deux phases liquides non miscibles, l'une aqueuse (dont la densité est inférieure à celle des éléments parasitaires) et l'autre constituée par un solvant lipophile (éther le plus souvent).

Le prélèvement est trituré dans la solution aqueuse, puis émulsionné avec le réactif lipophile. Après centrifugation, seul le culot est analysé microscopiquement.

Appliquées aux boues, ces techniques fournissent des culots de centrifugation extrêmement chargés, favorisant la dissimulation d'éléments parasitaires sous les débris, et de ce fait sont peu utilisées.

5.2.2 Méthodes par flottation

Cette technique est fondée sur la différence de densité existant entre le liquide de dilution et les éléments parasitaires. La densité de la solution est supérieure à celle des éléments parasitaires, lesquels vont se rassembler dans la pellicule se formant en surface.

Les techniques par flottation ont l'avantage de faciliter l'examen microscopique en éliminant bon nombre de résidus gênants.

■ **Méthode de Janeckso-Urbanyi (1931).**

□ **Matériel spécial**

Tamis.

□ **Réactif**

Iodomercurate de potassium d = 1,44.

Mode opératoire

L'échantillon est trituré dans une solution dense de iodomercurate de potassium (d = 1,44). Le mélange est ensuite filtré au travers d'un tamis. Le filtrat est déposé dans un tube jusqu'à formation d'un ménisque qui est

recouvert d'une lamelle sur laquelle adhèrent les parasites qui peuvent alors être observés microscopiquement.

Cette technique est de moins en moins utilisée en coprologie parasitaire en raison de la causticité et du pouvoir allergisant des réactifs.

■ Méthode par Triple Flottation au sulfate de zinc (Madeline, 2000)

Cette méthode a été reprise par l'AFNOR (2004) : Norme XP X33-017 (juillet 2004). Caractérisation des boues – Dénombrement et viabilité des œufs d'helminthes parasites – Méthode par une technique de triple flottation (indice de classement X33-017).

☐ Matériel spécial

- Centrifugeuse avec rotor à godets mobiles.
- Tubes à centrifuger en verre : volume 11 mL, diamètre 20 mm, fond conique.
- Tubes de 40 mL.
- Lames porte-objet.
- Lamelles couvre objet de 22 x 22 mm (ou 20 x 20 mm).
- Chambre humide.
- Étuve à 39 °C.

☐ Réactifs

- Sulfate de zinc (d = 1,38) :

sulfate de zinc, 7 H_2O		728 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

- acide malique :

acide malique		50 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

- NAD : ß-nicotinamide-adénine-dinucléotide :

ß-nicotinamide-adénine-dinucléotide		25 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

- Chlorure de magnésium :

chlorure de magnésium		48 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

- MTT : bromure de (3- [4,4-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényltétrazolium) :

MTT		6 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

- PMS : méthosulfate de phénazine :

PMS		5 g
eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

☐ Mode opératoire

0,5 g de MS d'une boue sont homogénéisés avec 22 mL de sulfate de zinc (d = 1,38). L'homogénat est déposé dans deux tubes puis centrifugé 3 minutes à 150 g. Après centrifugation, un ménisque, sur lequel une lamelle est déposée, est formé par addition de sulfate de zinc. Après un temps de contact de 3 minutes, les lamelles sont délicatement retirées et

le mélange (**préparé extemporanément**) composé de 3 μL d'acide malique, de NAD, de $MgCl_2$, de MTT et de PMS y est déposé et homogénéisé à l'aide d'une pipette Pasteur. Les deux lamelles sont alors déposées sur une lame. La suspension est homogénéisée dans les 2 tubes à centrifuger et l'opération précédemment décrite est recommencée une deuxième puis une troisième fois. Une première lecture microscopique permet de repérer et de dénombrer les œufs. Puis les lames sont incubées 5 heures à 39 °C en chambre humide pour que la réaction enzymatique se réalise. Une deuxième lecture est ensuite effectuée afin d'observer un changement de couleur des œufs initialement repérés : un œuf bleu est vivant alors qu'un œuf mort conserve sa couleur initiale.

5.2.3 Méthodes combinées (flottation et diphasique)

L'*Environmental Protection Agency* (EPA) conseille une méthode associant une flottation au sulfate de zinc et une étape diphasique à l'éther. Il existe deux techniques : US EPA de 1992 qui a été révisé en 1999, et l'EPA modifiée, recommandée par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (1998).

Ces techniques ont l'inconvénient d'être insuffisantes pour la détection des embryophores de *Taenia* spp.

■ US-EPA révisée 1999 (*United States – Environmental Protection Agency*)

Matériel spécial

- Centrifugeuse avec rotor à godets mobiles (pour flacon de 100 mL et 750 mL).
- Tamis de 315 μm.
- Pot à centrifuger 750 mL.
- Tubes à centrifuger 100 mL.
- Bécher de 5 L.
- Plaque à agitation magnétique.
- Cellule de Sedgwick-Rafter.

Réactifs

- Sulfate de magnésium (d = 1,20) :

sulfate de magnésium		454 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1000 mL

- Détergent 7X.
- Solution d'acide-alcool :

acide sulfurique	0,2 N
éthanol	70 %

- Ether diéthylique.
- H_2SO_4 0,1 N.

Mode opératoire

300 g de matière brute de boue sont homogénéisés à l'aide d'un détergent 7X puis tamisés (315 μm) avec 400 mL d'eau du robinet chaude (50 °C). Après une étape de sédimentation d'une nuit, le surnageant est aspiré et le sédiment est centrifugé (400 g pendant 3 minutes). Le culot est repris

dans 90 mL de sulfate de magnésium (d = 1,20). Une seconde centrifugation (400 g pendant 3 minutes) est réalisée, et le surnageant contenant les parasites est dilué avec 90 mL d'eau déionisée. Après trois heures de sédimentation, le surnageant est aspiré et le sédiment centrifugé (480 g pendant 3 minutes). Le culot est repris dans 7 mL d'acide-alcool et 3 mL d'acétate d'éthyle, puis de nouveau centrifugé (660 g pendant 3 minutes). Le culot est enfin repris dans une solution d'acide sulfurique 0,1 N puis incubé pendant 4 semaines à 26 °C afin d'observer l'embryonnement des nématodes. La lecture microscopique s'effectue au grossissement 100 dans une cellule de Sedgwick-Rafter de 1 mL de capacité.

■ EPA modifiée, recommandée par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (1998)

Cette technique diffère de l'US-EPA essentiellement par la densité et la composition du sel.

☐ Matériel spécial

- Centrifugeuse avec rotor à godets mobiles (pour flacon de 50 mL et 750 mL).
- Étuve.
- Tamis de 160 μm.
- Pot à centrifuger 750 mL.
- Tubes à centrifuger 50 mL.
- Bécher de 5 L.
- Cellule de Sedgwick-Rafter.

☐ Réactifs

- Sulfate de zinc (d = 1,30) :

sulfate de zinc, 7 H_2O		569,5 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

- Détergent 7X.
- Solution d'acide-alcool :

acide sulfurique	0,2 N
éthanol	70 %

- Ether diéthylique.
- Acide sulfurique 0,1 N.

☐ Mode opératoire

10 g de MS de boues sont tamisés (160 μm) avec 5 litres d'eau froide du robinet. Après une étape de sédimentation d'une nuit, le surnageant est aspiré et le sédiment centrifugé (400 g pendant 3 min.). Le culot est repris dans 150 mL de sulfate de zinc, (d = 1,30). Une seconde centrifugation (400 g pendant 3 minutes) est effectuée, le surnageant contenant les parasites est dilué dans 1 L d'eau du robinet au minimum. Après trois heures de sédimentation, le surnageant est aspiré et le sédiment est centrifugé (480 g pendant 3 minutes). Il est ensuite repris dans 15 mL d'acide-alcool et 10 mL d'éther éthylique avant de subir une dernière centrifugation (660 g pendant 3 minutes). Le culot est enfin repris dans une solution d'acide sulfurique 0,1 N puis incubé pendant 4 semaines à 26 °C afin d'observer l'embryon-

nement des nématodes. La lecture microscopique s'effectue au grossissement 100 dans une cellule de Sedgwick-Rafter de 1 mL de capacité.

Méthode de référence

Norme expérimentale AFNOR XP X33-017 (juillet 2004). Caractérisation des boues – Dénombrement et viabilité des œufs d'helminthes parasites – Méthode par une technique de triple flottation (indice de classement X33-017).

6 • VÉRIFICATION DU FONCTIONNEMENT D'UNE STATION D'ÉPURATION

En dehors des contrôles habituels (DBO, DCO, matières en suspension, matières organiques, phosphates, azote, *p*H, etc.), il peut être utile de procéder à certaines vérifications complémentaires lors de l'exploitation des stations d'épuration.

6.1 Capacité d'oxygénation

L'apport d'oxygène constitue une part importante des frais d'exploitation d'une station d'épuration biologique. Les performances des aérateurs sont déterminées par la mesure de la capacité d'oxygénation dans le bassin d'aération contenant une eau claire (eau de distribution), l'aération dépendant fortement des caractéristiques de volume et de forme de bassin. Les conditions de transfert de l'oxygène dans l'eau varient pour un couple aérateur-bassin donné avec la nature du liquide, la température, la pression partielle de l'oxygène.

■ Principe

La capacité d'oxygénation détermine la quantité d'oxygène nécessaire à apporter par unité de temps et de volume à une eau désoxygénée au préalable pour obtenir une saturation en oxygène dans des conditions normalisées de température, de pression et de milieu. La désoxygénation est réalisée par un réducteur en présence d'un catalyseur.

□ Matériel spécial

– Oxymètre (millivoltmètre).

– Se reporter à la méthode de dosage de l'oxygène par la méthode de Winkler (A-4.3.1) ou par la méthode électrochimique (A-4.3.2).

□ Prélèvements

Effectuer les prises d'échantillon en plusieurs points fixes du bassin en se reportant par exemple au schéma ci-joint.

□ Réactifs

– Sulfite de sodium anhydre.

– Chlorure de cobalt.

– Réactifs nécessaires au dosage de l'oxygène dissous par la méthode de Winkler.

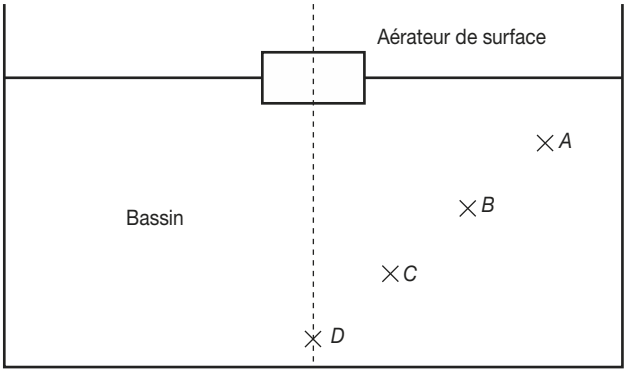


Schéma de principe pour prise d'échantillon dans un bassin

Mode opératoire

Remplir le bassin avec de l'eau de distribution, réaliser la désoxygénation en répartissant uniformément sur toute la surface du bassin du sulfite de sodium à raison de 120 g/m^3 et du chlorure de cobalt à raison de 1 g/m^3. Homogénéiser le milieu en faisant fonctionner l'aérateur quelques minutes. Arrêter l'aérateur pour permettre la réduction de l'oxygène, vérifier que la désoxygénation est complète en effectuant des mesures à l'oxymètre. Mettre l'aérateur en route. À partir du moment où l'oxygène dissous commence à apparaître, noter l'heure et effectuer des prélèvements à chaque prise d'échantillon à une fréquence conditionnée par la vitesse de remontée de l'oxygène dissous ; elle varie de 30 secondes à plusieurs minutes suivant l'aérateur et la dimension du bassin. Effectuer les mesures d'oxygène dissous par la méthode de Winkler avec introduction immédiate de réactifs. Suivre simultanément la montée de l'oxygène dissous à l'oxymètre. Arrêter les mesures lorsque la concentration atteint 8 à 9 mg/L, un minimum d'une douzaine de mesures est souhaitable. Laisser fonctionner l'aérateur pendant 1 à 3 heures et même davantage si nécessaire pour déterminer la saturation en oxygène de l'eau, la vérifier par des dosages aux différents points de prise d'échantillon. Noter la température et la pression atmosphérique.

Expression des résultats

La capacité d'oxygénation (CO) du bassin est donnée par la formule :

$$CO = 11{,}25 \times 2{,}3 \times k_L.a \times \text{coefficient global de correction}$$

11,25 = Concentration en oxygène à saturation de l'eau à 10 °C.

$$k_L.a = \log_{10} \frac{C_s - C_o}{C_s - C_t} \Big/ t \text{ (en heures).}$$

C_s = Concentration en oxygène à saturation.

C_o = Concentration en oxygène nulle.

C_t = Concentration en oxygène en fonction du temps (t).

t = temps pour passer de C_o à une valeur de C_t donnée.

Coefficient global de correction = coefficient de correction de température × coefficient de correction de transfert K × coefficient de correction de pression atmosphérique.

Coefficient de température = $\dfrac{C_s \text{ 10 °C}}{C_s \text{ théorique } \theta_o}$.

θ_o = température réelle de l'expérimentation

Coefficient de transfert = $\sqrt{\dfrac{K10°}{K\theta°}}$.

Valeurs de $\sqrt{\dfrac{K\,10°}{K\theta°}}$ en fonction de la température

(en degrés centigrades)

Température (°C)	$\sqrt{\dfrac{K\,10°}{K\theta°}}$	Température (°C)	$\sqrt{\dfrac{K\,10°}{K\theta°}}$
9	1,019	17	0,878
10	1,000	18	0,861
11	0,982	19	0,843
12	0,964	20	0,830
13	0,946	21	0,815
14	0,928	22	0,799
15	0,911	23	0,784
16	0,895	24	0,770

Correction de pression = $\dfrac{760}{\text{Pression atmosphérique (mm Hg) réelle de l'expérimentation}}$

6.2 Indice de Mohlman

■ Principe

L'indice de Mohlman (ou *Sludge Volume Index*) se définit comme étant le volume occupé après décantation de 30 minutes d'un échantillon de boues correspondant à 1 gramme de matière sèche.

■ Mode opératoire

Introduire dans une éprouvette 1 litre de boues. Déterminer le volume (en mL) occupé par les boues après une décantation d'une demi-heure. Déterminer par ailleurs la teneur en matières sèches d'un litre de boues à analyser.

Expression des résultats

L'indice de Mohlman est représenté par le rapport :

$$\frac{\text{Boues décantées en 30 min (mL/L)}}{\text{Masse de matières sèches (g/L)}}$$

Remarques

– L'indice de Mohlman permet de caractériser la décantabilité des boues, une boue normale a un indice de 100. En présence de phénomène de *bulking*, l'indice augmente ; il peut atteindre la valeur de 500.

– Lorsqu'il y a des problèmes de décantation sur le clarificateur, il convient d'effectuer un examen microscopique des boues.

6.3 Indice de boues

L'indice de Mohlman n'est réellement représentatif de la décantabilité d'une boue que si le volume final obtenu, à partir d'un volume initial de un litre, est compris entre 100 et 250 mL. Dans cette zone, l'indice est proportionnel à la concentration en boues.

L'indice de boues (ou *Diluted Sludge Volume Index*) est défini à partir de tests de décantation permettant d'obtenir des volumes de boues compris entre 100 et 250 mL.

Mode opératoire

Dans une série d'éprouvettes graduées de 1 litre, verser respectivement 500, 250 et 125 mL de boues provenant du bassin d'aération, prélevées après 15 à 20 minutes de fonctionnement du système d'aération. Compléter à 1 litre les éprouvettes avec de l'eau prélevée en sortie du clarificateur. Homogénéiser le contenu des éprouvettes en les retournant plusieurs fois après obturation. Laisser décanter 30 minutes. Au bout de ce temps, noter la hauteur du voile de boue.

Prélever sur l'échantillon issu de l'aérateur une aliquote pour la mesure de la matière sèche.

L'indice de boues est donné par la formule :

$$I_B = \frac{V_{30}}{(MES)_a \times f}$$

V_{30} = Volume de boues dans l'éprouvette après décantation de 30 min, exprimé en mL.

$(MES)_a$ = Concentration en boues dans l'aérateur (exprimée en g/L de matières sèches).

f = Facteur de dilution (volume de boues initialement introduit dans l'éprouvette en mL/1 000).

6.4 Activité de la biomasse : mesure respirométrique

Le renforcement de la réglementation en matière d'assainissement impose une meilleure maîtrise du fonctionnement des stations d'épuration biologiques par boues activées. La mesure de la vitesse de consommation de la biomasse présente, appelée respirométrie, constitue un bon indicateur de l'activité microbienne d'une biomasse aérobie.

Lors de la respiration aérobie, la biomasse hétérotrophe présente (constituée de microorganismes dont des bactéries et des protozoaires) utilise le substrat carboné (correspondant aux polluants organiques). Une partie de ce substrat organique est oxydé pour donner de l'énergie et le reste sert à la génération de nouvelles cellules.

Lorsque la matière organique biodégradable est consommée par une biomasse aérobie, il se produit une consommation d'oxygène par les microorganismes, pour leur respiration endogène (auto-oxydation des constituants cellulaires), pour leurs besoins énergétiques, et pour la synthèse de nouvelles cellules.

On exprime généralement ces besoins globaux en oxygène sous la forme suivante :

Besoins en oxygène = a'.DBO éliminée + b'.masse de matière vivante

où :

a' et b' représentent les coefficients respiratoires de la boue activée utilisée,

(a' . DBO) éliminée représente les besoins pour la synthèse bactérienne,

(b' . masse de matière vivante) représente les besoins pour la respiration endogène.

■ Objectif et principe

La détermination de l'activité d'une biomasse par respirométrie consiste à mesurer l'oxygène consommé par le processus biologique. Seule la respiration endogène est prise en compte dans cette détermination. La mesure est donc pratiquée sur une boue privée de nourriture (DBO).

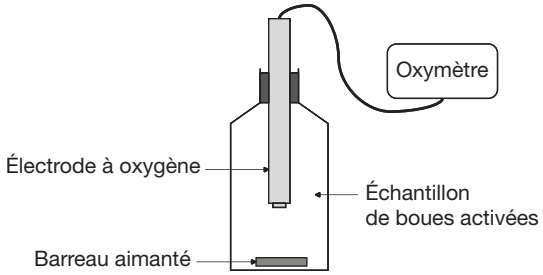
Le suivi de la consommation en oxygène par la biomasse aérobie permet de connaître l'état de cette biomasse et son aptitude à éliminer une pollution carbonée.

Cette activité respiratoire se mesure à l'aide d'un respiromètre.

□ Matériel

– appareil de mesure (respiromètre) :

Un respiromètre type est présenté sur le schéma ci-dessous. Il est constitué d'un flacon d'environ 200 à 300 mL muni d'un bouchon dans lequel on pourra placer hermétiquement l'électrode à oxygène. Le flacon sera placé sur un agitateur magnétique.



– oxymètre équipé de sa sonde à oxygène.

Mode opératoire

Un échantillon de boues activées (suffisant pour remplir totalement le respiromètre) est prélevé dans le bassin d'aération de la station d'épuration.

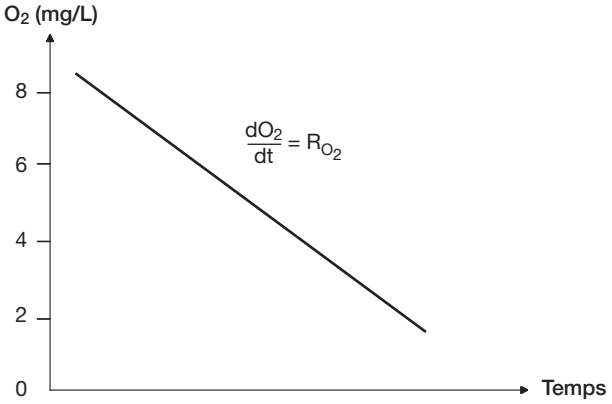
Il est mis sous aération pendant environ 2 heures pour éliminer la matière organique biodégradable résiduelle (DBO) contenue dans l'eau.

L'échantillon est ensuite transféré dans le respiromètre, rempli sans bulles d'air et sur lequel on ajuste l'électrode de mesure d'oxygène.

La concentration en oxygène est suivie au cours du temps jusqu'à une concentration d'environ 1 mg/L.

Résultats

Dans le respiromètre, la concentration en oxygène décroît linéairement (voir figure ci-dessous).



Évolution de la consommation en oxygène dans une boue activée privée de nourriture

Cette décroissance est proportionnelle à l'activité des microorganismes et la vitesse de décroissance de la concentration en oxygène dans le respiromètre fermé donne le taux de respiration RO_2 de la boue activée.

Remarques

– Si on mesure en parallèle la concentration en biomasse de la boue activée, en déterminant sa teneur en MVS (matières volatiles en suspension), on pourra calculer la quantité d'oxygène consommée par g de biomasse (en g d'oxygène par g de MVS et par heure).

– Ce respiromètre permet de déterminer les coefficients respiratoires d'une boue activée.

6.5 Essai d'inhibition de la respiration des boues activées

■ Objectif et principe

Certaines substances présentes dans des rejets sont susceptibles de nuire au fonctionnement des stations d'épuration fonctionnant avec un traitement biologique par boues activées. Les microorganismes aérobies présents dans ces boues consomment de l'oxygène selon un taux de respiration (exprimé en mg d'oxygène par heure), qui sera affecté par la présence d'un inhibiteur.

La comparaison des taux de respiration d'une boue activée, mesurés en présence ou en absence de la substance étudiée (*), permet de connaître l'effet inhibiteur de cette substance et de déterminer sa concentration inhibitrice.

□ Matériel

– dispositifs d'aération permettant d'assurer un débit de 0,5 à 1 L par minute,

– pH mètre,

– oxymètre équipé de sa sonde à oxygène,

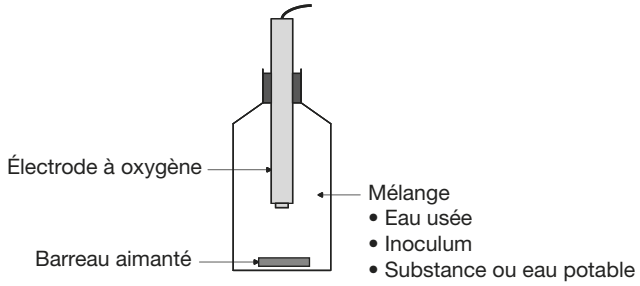
– béchers d'environ 600 mL,

– fioles jaugées de 500 mL,

– quadrillé gausso-logarithmique (dit log-probabilité, ou log-probit),

– appareil de mesure (respiromètre).

L'appareil schématisé ci-dessous pourra être utilisé pour les essais (voir D-7.3). Il est constitué d'un flacon de 200 à 300 mL muni d'un bouchon dans lequel on pourra placer hermétiquement l'électrode à oxygène. Le flacon sera placé sur un agitateur magnétique.



(*) La substance étudiée peut être une molécule organique ou encore un effluent spécifique contenant des composés présumés inhibiteurs.

Réactifs

EAU POTABLE

On pourra utiliser l'eau du robinet du laboratoire après avoir éliminé le chlore résiduel éventuellement présent (sur charbon actif par exemple).

EAU USÉE RECONSTITUÉE

Peptone		16 g
Extrait de viande		11 g
Urée		3 g
Chlorure de sodium		0,7 g
Chlorure de calcium dihydraté		0,4 g
Sulfate de magnésium heptahydraté		0,2 g
Phosphate dipotassique		2,8 g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 mL

INOCULUM BACTÉRIEN

Il est constitué d'une boue urbaine centrifugée et lavée.

Prélevée dans uns station d'épuration urbaine, la boue est centrifugée. On élimine la surnageant puis on ajoute de l'eau potable (déchlorée). On centrifuge à nouveau et on répète cette opération 2 fois.

Une fraction de cette boue humide est séchée à 105 °C et pesée. On prépare alors une suspension de boue dans l'eau potable déchlorée présentant une teneur en MES d'environ 4 g/L.

Si la boue ne peut pas être utilisée le jour même, on ajoute 50 mL d'eau usée reconstituée pour chaque litre d'inoculum et on met sous aération à 20 °C.

SUBSTANCE DE RÉFÉRENCE

Une solution de dichloro-3,5 phénol pourra être utilisée comme référence. La concentration inhibitrice du dichloro-3,5 phénol se situe entre 5 et 30 mg/L.

On préparera donc une solution mère concentrée à 500 mg/L qui sera diluée pour les essais. Son pH sera ajusté entre 7 et 8.

Mode opératoire

Dans une fiole jaugée de 500 mL introduire :

eau usée reconstituée		16 mL
eau de distribution déchlorée	environ	100 mL
solution de substance à étudier		100 mL
inoculum bactérien		200 mL
eau de distribution déchlorée	q.s.p.	500 mL

Agiter et verser dans un bécher de 600 mL.

Démarrer l'aération à un débit de 0,5 à 1 L/min en utilisant une pipette Pasteur plongeant dans le bécher.

Après 3 heures d'aération, transférer une partie de la solution dans l'appareil de mesure, rempli sans bulles d'air et sur lequel on ajuste l'électrode de mesure d'oxygène. Le taux de respiration est suivi au cours du temps pendant 10 minutes (ou moins si la consommation d'oxygène est rapide.

Ce mode opératoire est réalisé de la même manière :

– pour chaque concentration de la substance à étudier

– pour 2 essais témoin, en remplaçant la substance à étudier par de l'eau de distribution,

– pour les solutions de référence de dichloro-3,5 phénol.

Traitement des résultats

Tracer pour chaque échantillon la courbe de consommation en oxygène en fonction du temps et déterminer ainsi le taux de respiration en mg d'oxygène par litre et par heure. On utilisera les mesures comprises approximativement entre 6,5 mg/L d'O_2 et 2,5 mg. L d'O_2 ou sur une période de 10 minutes quand le taux de respiration est faible. La partie de la courbe exploitée doit être linéaire.

Pour chaque concentration de la substance, l'effet inhibiteur (exprimé en pourcentage) se calcule comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = 1 - \frac{2\,S}{T_1 + T_2} \times 100$$

où :

S est le taux de consommation en oxygène de la substance à une concentration donnée

T_1 et T_2 sont les taux de consommation en oxygène des solutions témoin.

Le même calcul est réalisé pour chaque concentration de la substance S.

Sur un quadrillé gausso-logarithmique (échelle log en abscisse et échelle gaussienne en ordonnée), on porte alors le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration. On en déduit la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition, soit la CE_{50}.

Cette valeur de CE_{50} donne une indication de la concentration toxique vis-à-vis de la flore bactérienne des boues activées.

Remarques

– Si le taux de respiration des 2 témoins diffère de plus de 15 %, l'essai devra être recommencé.

– La CE_{50} du dichloro-3,5 phénol doit être comprise entre 5 et 30 mg/L.

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre D-1 (Généralités)

C. Pernet, M. Bernard, X. Lebosse et J.-C. Bourdelot (2005). Étude de la variabilité des eaux résiduaires. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances,* 285, p. 53-58.

J. Gasperi, M. Kafi-Benyahia, C. Lorgeoux, R. Moilleron, M.C. Gromaire et G. Chebbo (2006). Variabilité spatiale des caractéristiques des polluants transitant par temps sec dans le réseau d'assainissement unitaire parisien. *Techniques, Sciences, Méthodes*, 11, p. 23-34.

J. Gasperi, M. Kafi-Benyahia, C. Lorgeoux, R. Moilleron, M.C. Gromaire et G. Chebbo (2006). Variabilité spatiale des caractéristiques des polluants transitant par temps de pluie dans le réseau d'assainissement unitaire parisien. *Techniques, Sciences, Méthodes*, 11, p. 35-49.

Chapitre D-2 (Critères globaux de pollution)

F. Edeline (1961). Les applications du potentiel d'oxydo-réduction. *C.B.E.D.E. Bull. mens.,* **124**, p. 95-100.

R. F. Thomas, R. L. Booth (1973). Selective electrode measurement of ammonia in water and wastes. *Environmental Science and Technology*, **7**, (6), p. 523.

J. L. Marty, R. Ben Aim (1976). La mesure automatique de la demande totale en oxygène appliquée au contrôle des eaux résiduaires T.S.M. *L'eau,* **12**, p. 531-540.

M. Dore, N. Brunet, B. Legube (1975). Participation des différents composés organiques à la valeur des critères globaux de pollution. *CEBEDEAU 32*, **374**, p. 3-11.

M. Bonnefille, R. Dugas, D. Peyre et A. Tabonet (mai 1981). Le dosage du phosphore total dans les eaux usées. *T.S.M. L'eau,* p. 301-306.

G. Tchobanoglous and E.E. Schroeder (1985). Water quality : characteristics, modelling, modification. *Addison-Wesley*.

S. Russel (1994). WRC Instrument Handbooks : a guide to measurement in water application. *WRC Publications*.

P. Servais, A. Barillier and J. Garnier (1995). Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon in waters. Int. J. Limnology. 31 (1), p. 75-80.

O. Thomas (1995). Métrologie des eaux résiduaires. *Lavoisier Tec et Doc/CEBEDOC éditeurs*.

O. Thomas *et al.* (1997). Wastewater quality monitoring, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 16, (7), p. 419-424.

C. Netter (1998). Détermination automatisée de la DBO5 : validation de la mesure d'oxygène dissous en flacon ouvert. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances,* 216, p. 40-42.

M. Viandon, B. Weiss (1998). La mesure en continu sur une station d'épuration : un virage à prendre. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances,* 216, p. 36-39.

O. Thomas, H. El Khorassani, E. Touraud and H. Bitar (1999). TOC versus UV spectrophotometry for wastewater quality monitoring. Talanta, 50, (4), p. 743-749.

S. Vaillant, M.F. Pouet and O. Thomas (2002). Basic handling of UV spectra for urban water quality monitoring. *Urban Water*, 4, (3), p. 273-281.

G. Langergraber, N. Fleischmann and F. Hofstader (2003). A multivariate calibration procedure for UV/VIS spectrometric quantification of organic matter and nitrate wastewater. *Water Science and Technology*, 47, p. 63-72.

G. Herry, M. Inizan, J. Beausse et L. Patria (2004). Les hormones stéroïdiennes dans les stations d'épuration : détermination et occurrence. Colloque Journée Information Eaux, 16e édition, Poitiers, 29-30 septembre et 1er octobre, 60-1 à 60-13.

APHA/AWWA/EPA (American Public Health Association, American water Works Association, Environmental Protection Agency) (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. *APHA.* Washington DC. 23rd edition.

M.O. Mizier (2006). COT, DBO, DCO, AOX : les paramètres de somme indiquent la qualité du milieu. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances,* 289, p. 55-61.

M.L. Janex-Habibi et coll. (2006). Distribution et devenir des hormones oestrogènes et des alkylphénols dansd 8 stations de traitement d'eaux résiduaires françaises. Colloque Journées Information Eaux, 17e édition, Poitiers, 26-28 septembre, 13-1 à 13-14.

O. Thomas, F. Theraulaz, S. Vaillant and M.F. Pouet (2007). *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, Urban wastewater Chapter 8, (27), p. 189-216.

F. Bertaud et coll. (2008). Caractérisation des substances responsables de la DCO dure d'effluents papetiers. Colloque *Journées Information Eaux*, 18e édition, Poitiers, 23-25 septembre 2008.

Chapitre D-3 (Dosages particuliers)

J.K. McCluskey, J.A. Martucci (1967). Colorimetric determination of morpholine in the presence of hydrazine. *ASTM Materials Research and Standards,* **7**, (2), p. 57-58.

J.W. McCoy (1969). *Chemical analysis of industrial water.* Chemical Publishing Co. Inc. New York.

C. Collombel, J.-P. DuranD, J. Bureau, J. Cotte (1970). *Journal Europ. Toxicol. Fr.,* **5**, (3), p. 291-299.

W.J. Blaedel, D.B. Easty (juin 1971). *Anal. Chem.,* **7**, (43), p. 890.

B. Baleux (1972). Dosage colorimétrique d'agents de surface non ioniques polyoxyéthylènes à l'aide d'une solution iodo-iodurée. *C. R. Acad. Sc. Paris,* **274**, p. 1617.

B. Baleux, P. Caumette, J. F. Coste, J. C. Lebecq (avril 1974). Détermination quantitative des agents de surface cationiques de type ammonium quaternaire par dosage photocolorimétrique du complexe formé avec l'alizarine. *Journal français d'hydrologie,* **13**.

J. Epstein (1974). Estimation of microquantities of cyanides. *Anal. Chem.,* **19**, p. 272.

G. Nota, C. Improta, V.R. Miraglia (1982). Determination of cyanydes and thiocyanates in water as cyanogen bromide by headspace gas chromatography. *J. Chromatogr.* 242, p. 359-363.

M. Drikas, B.I. Routley (1988). Spectrophotometric method for the determination of total cyanide in wastewater. *Analyst,* **113**, (8), p. 1273-1276.

C. Maseda, K. Matsubara, M. Hasegawa, A. Akane, H. Shiono (1990). Determination of blood cyanide using head-space gas chromatography with electron capture detection, *Nippon Hoigaku Zasshi,* **44**, (2), p. 131-136.

R. Rubio, M.T. Galceran, G. Rauret (1990). Nitriles and isonitriles as interferents in cyanide determination in polluted water, *Analyst,* **115**, (7), p. 959-963.

B. Fouillet, M. Odoul, R. Chambon et P. Chambon (1992). Dosage spécifique dans l'eau de l'ion cyanure par CPG/ECD à l'état de chlorure de cyanogène. *Journal français d'hydrologie,* **23**, (2), p. 161-169.

A. Bruchet, C. Prompsy, G. Filippi and A. Souali (2002). A broad spectrum analytical scheme for the screening of endocrine disruptors (EDs), pharmaceuticals and personal care products in wastewaters and natural waters. *Water Science and Technology*, 11, p. 97-104.

S.J. Khan and J.E. Ongerth (2002). Estimation of pharmaceutical residues in primary and secondary sewage sludge based on quantities of use of fugacy modelling. *Water Science and Technology*, 46, p. 105-114.

APHA/AWWA/EPA (American Public Health Association, American water Works Association, Environmental Protection Agency) (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. APHA. Washington DC. 23rd edition.

G. Varrault, C. Gounou, K. Amedzro et G. Chebbo (2006). Caractérisation des sources de métaux dans les réseaux d'assainissement : utilisation de traceurs. *Techniques, Sciences, Méthodes*, 11, p. 87-95.

P. Quevauviller (2006). Métrologie en chimie de l'environnement. Editions *TEC & Doc – Lavoisier*. 2e édition.

Chapitre D-4 (Radioactivité)

[1] Les rejets des installations nucléaires dans « Contrôle », La revue de l'Autorité de sûreté nucléaire N° 137, Novembre 2000.

[2] Options de rejet des effluents des installations nucléaires. Contexte technique et aspects réglementaires (2003) Agence pour l'Énergie Nucléaire (OCDE) (104 pages) ISBN 92-64-02147-7. Les Éditions de l'OCDE, Paris.

[3] Philippe Saint Raymond. La convention OSPAR et les rejets radioactifs dans l'Atlantique. Référence 1, p. 62.

[4] Loi n° 2006-739 du 28 juin 2006 de programme relative à la gestion durable des matières et déchets radioactifs. JORF n° 149 du 29 juin 2006, p. 9721.

[5] Décret n° 95-540 du 4 mai 1995 relatif aux rejets d'effluents liquides et gazeux et aux prélèvements d'eau des installations nucléaires de base.

[6] Arrêté du 26 novembre 1999 fixant les prescriptions techniques générales relatives aux limites et aux modalités des prélèvements et des rejets soumis à autorisation, effectués par les installations nucléaires de base. JORF n° 3 du 5 janvier 2000, page 176, texte n° 12.

[7] Rapport F-99/3 « Vérification au titre de l'article 35 du traité Euratom ». CNPE Chooz B, Département des Ardennes, France, du 22 au 25 novembre 1999. Commission Européenne. Direction Générale Environnement, Direction C – Sécurité nucléaire et protection civile.

[8] Arrêté du 15 février 2008 portant homologation de la décision n° 2008-DC-0090 de l'Autorité de sûreté nucléaire du 10 janvier 2008 fixant les limites de rejet dans l'environnement des effluents liquides et gazeux des installations nucléaires de base n° 136 et n° 140 exploitées par Electricité de France (EDF SA) sur les communes de Penly et Saint-Martin-en-Champagne (Seine-Maritime). JORF n° 0051 du 29 février 2008, p. 3533.

[9] Décision n° 2008-DC-0090 de l'Autorité de sûreté nucléaire fixant les limites de rejets dans l'environnement des effluents liquides et gazeux des installations nucléaires de base n° 136 et n° 140 exploitées par Électricité de France (EDF SA) sur les communes de Penly et Saint-Martin-en-Champagne (Seine-Maritime).

[10] Arrêté du 5 février 2008 portant homologation de la décision n° 2007-DC-0075 de l'Autorité de sûreté nucléaire du 4 décembre 2007 fixant les limites de rejet dans l'environnement des effluents liquides et gazeux de l'installation nucléaire de base n° 155, dénommée TU 5, exploitée par AREVA NC sur la commune de Pierrelatte (Drôme). JORF n° 0038 du 14 février 2008, p. 2726.

[11] Rejets génériques d'un REP et d'une usine de retraitement. Annexe 3 de la référence 2, p. 95-97.

[12] A. Fraizier, P. Gueguenat, J.-C. Salomon (1992). Aspects temporels de l'impact de rejets radioactifs, effectués en mer, sur les eaux d'une station littorale de la Manche. Oceanologica Acta, 15, (1), p. 75-85.

[13] Circulaire DGS/SD 7 D/DHOS/E 4 n° 2001-323 du 9 juillet 2001 relative à la gestion des effluents et des déchets d'activités de soins contaminés par des radionucléides.

Chapitre D-5 (Parasitologie)

G. Ockert (1966). Erfahrungen mit einer modifizierten Austriebsmethode zum Nachweis von Wurmeiern (Expériences réalisées selon une méthode de sédimentation modifiée, pour la détection des œufs d'helminthes). *Abwasser Wasserwirtschaft Wassertechnik,* **16**, p. 198-201.

G. Ockert (1969). Erfahrungen mit einer modifizierten Austriebsmethode zum Nachweis von Wurmeiern in Abwasser. II. Das Erfassungsvermögen des Verfahrens (Expériences réalisées selon une méthode de sédimentation modifiée, pour la détection des œufs d'helminthes dans les eaux usées. II. Applicabilité de la méthode). *Zeitschrift für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete,* **15**, p. 515-521.

A. Teichmann (1986). Zur Methodik des quantitativen Nachweis von Helminthenstadien in kommunalen Abwassern (La détection des œufs d'helminthes dans les eaux usées municipales). *Angewandte Parasitologie,* **27**, p. 145-150.

OMS (1989). *L'utilisation des eaux usées en agriculture et en aquiculture : recommandations à visées sanitaires.* Rapport n° 778.

M. Madeline, C. Ballandone, R. Guyon, J P. Malas, P. Vilagines, J. Cabaret *et al.* (2000). Mise en évidence de la viabilité des œufs de Taeniidés dans les boues résiduaires urbaines. *J. Eur. Hydro.*, 31, (1), p. 85-90.

Chapitre D-6 (Station d'épuration)

P. Boutin, A. Vachon, J. P. Bechac, B. Lopez (1975). Mesure de la capacité d'oxygénation dans les stations de traitement à boues activées en mélange intégral. *T.S.M. L'eau,* p. 493.

R. Poujol (1988). *Qualité des boues activées et dimensionnement des décanteurs secondaires.* Rapport CEMAGREF.

Agences de l'Eau (1994). L'assainissement des agglomérations : techniques d'épuration actuelles et évolutions. *Agences de l'Eau/ministère de l'Environnement.* Études Inter-Agences. N° 27.

B. Chocat (1997). Encyclopédie de l'hydrologie urbaine et de l'assainissement. *Editions Tec et Doc.* Paris.

Degremont (2005). Mémento technique de l'eau. *Degrémont/Suez.* 10e édition.

E

Analyse de l'eau de mer

1 • GÉNÉRALITÉS

En 1965, dans son introduction historique à la chimie des océans, J.P. Riley soulignait l'importance des travaux du XIXe siècle relatifs à la composition chimique des eaux de mer. Les observations et résultats qui en résultèrent sont en grande partie à l'origine des connaissances et des concepts contemporains de « l'hydrologie des écosystèmes marins ».

Ce terme souvent employé pour désigner une approche physique du milieu marin, prend cependant en compte les propriétés physico-chimiques et chimiques des masses d'eau.

L'étude des écosystèmes marins se fonde sur des descripteurs complémentaires, caractérisés par des analyses physico-chimiques et chimiques satisfaisant à des critères analytiques objectifs. Le suivi rigoureux des procédures analytiques est d'autant plus important que l'analyse des eaux de mer est soumise à de nombreux pièges.

Comme pour l'analyse des eaux douces, l'hydrologie marine consiste à mesurer des descripteurs caractéristiques de la masse d'eau, soit directement dans le milieu ou bien en laboratoire, à partir de prélèvements. Cependant, en milieu marin, il est essentiel de prendre en compte l'effet du déplacement des masses d'eau et la salinité du milieu.

Les courants marins, dus à la circulation générale, au phénomène de marée et au vent, sont à l'origine d'une circulation des masses d'eau dans toutes les directions et à grande échelle. Ces trois variables dépendant des régions géographiques, il sera important de les appréhender selon la situation locale pour la mise en place des études et pour la pertinente de l'interprétation des résultats.

L'eau de mer est salée ! Cette propriété fondamentale doit être prise en compte dans la stratégie d'étude du milieu ainsi qu'au niveau analytique. Ainsi, la densité des eaux marines est accrue par la présence de sel, il en résulte des gradients salins verticaux et horizontaux dont la formation est fonction du débit des fleuves, de la forme des estuaires, de l'amplitude des marées (marnage). Les gradients salins verticaux vont influencer la distribution des nombreuses particules, minérales, organiques, vivantes (microorganismes) et détritiques, véhiculées par les eaux en ralentissant plus ou moins leur chute vers le fond. La salinité s'avère être un bon indicateur du mélange des proportions d'eau douce et d'eau de mer. Au niveau analytique, le sel peut perturber, les analyses par effet ionique, ou par l'interférence d'un de ces constituants au cours d'une réaction chimique particulière. La mesure précise de la salinité doit donc être connue afin d'éviter les erreurs analytiques.

La qualité de l'eau de mer résulte de processus chimiques et biologiques, eux-mêmes plus ou moins influencés voire altérés par les apports dus à

l'activité humaine. Tenant compte des deux effets majeures que sont les déplacements des masses d'eaux et la salinité des eaux, et des divers processus lorsqu'ils sont connus, l'analyse de l'eau de mer doit répondre à deux questions, étroitement liées, mais dont l'importance varie suivant la nature des problèmes posés. La première question concerne la connaissance de la composition exacte de l'eau de mer, la nature et la concentration de ses différents constituants normaux, éléments majeurs et éléments à l'état de traces dont la présence et la répartition sont relativement homogènes dans les mers. La deuxième question, d'ordre plus pratique et dont l'importance s'accroît de jour en jour, concerne la mise en évidence de nouveaux éléments ou composés pouvant sembler étrangers au milieu marin et surtout des modifications de la composition normale de l'eau liées en grande partie à l'activité humaine. Toute la difficulté de l'interprétation de l'analyse réside précisément dans cette appréciation critique des variations des concentrations des constituants habituels ou considérés comme anormaux et plus particulièrement de celle des éléments à l'état de traces. Le milieu marin est à la fois le témoin et l'acteur de l'histoire de la planète et sa composition chimique résume et intègre toute la complexité des processus de son évolution. En raison de la nature même du cycle de l'eau et de ses effets (dissolution, lessivage, concentration, etc.), le milieu marin contient dans une très large gamme de concentrations, les sels les plus solubles de la croûte terrestre (chlorure de sodium en particulier) mais aussi des quantités variables de presque tous ses constituants que souvent, seule une analyse très fine permet de détecter.

De plus, les phénomènes biologiques intenses passés ou présents, ont modifié et modifient encore localement la répartition des éléments minéraux. D'autre part cette même activité biologique jointe à l'importance des mouvements naturels des masses liquides marines et à la complexité des phénomènes physico-chimiques d'insolubilisation compliquent la distribution des composés minéraux et organiques entre différentes phases ou compartiments aux limites mouvantes : solutions vraies, solutions colloïdales, complexes organo-métalliques, matières en suspension de tailles variables, sédiments et aussi films de surface créés par les composés de densité inférieure à celle de l'eau de mer. À ceci s'ajoute pour les composés organiques la difficulté de distinguer les constituants de la matière vivante et leurs produits de décomposition et de dégradation.

■ Prélèvements

Le prélèvement correspondant à la prise d'un certain volume représentatif du milieu, et l'échantillonnage qui consiste à soutirer des fractions du prélèvement (échantillons) sont des étapes importantes dans l'acquisition de résultats. La chaîne prélèvement-échantillonnage-conservation-analyse doit être cohérente afin de maintenir l'intégrité de l'eau à étudier.

Le cas échéant, prélèvements et/ou échantillons feront l'objet d'un prétraitement suivant le type d'analyse envisagé.

Les milieux côtiers et estuariens, pour des raisons physiques, chimiques et biologiques, sont des milieux marins extrêmement changeants. L'organisation des prélèvements devra tenir compte de nombreux facteurs tel que courants, marées, régimes des apports fluviaux, efflorescences planctoniques. Elle devra être définie et adaptée en fonction du site, de la

présence ou non d'émissaires d'eaux domestiques, des embouchures, de la topographie, de la bathymétrie et du mélange des masses d'eaux.

Suivant la question posée, le site étudié, les prélèvements se feront ou non sur des embarcations adaptées. Selon la profondeur, l'embarcation sera équipée d'un treuil hydrographique muni d'un câble d'acier lesté sur lequel seront fixés des bouteilles de prélèvements. L'ensemble est manipulé à partir d'une grue ou à partir d'un système manuel sur les petites embarcations.

Les prélèvements d'eau de mer sont en général réalisés dans des hauteurs d'eau très variées, comprises entre quelques centimètres et plusieurs centaines de mètres.

Par ailleurs, les milieux investigués présentent des caractéristiques souvent très différentes suivant la courantologie et la possible présence d'une thermocline, ainsi que suivant leurs localisations à proximité du rivage jusqu'au grand large. Ceci est à prendre en compte pour établir la stratégie et le plan d'échantillonnage.

Ces différences et la variabilité dans le temps et dans l'espace de la qualité de l'eau de mer impliquent la nécessité d'une grande adaptabilité des moyens et des savoirs faire, en tenant aussi compte des difficultés inhérentes aux campagnes en mer (mauvais temps, houle, variation de la bathymétrie…).

Ainsi, la réalisation d'un échantillon composite, intégrant la totalité de la colonne d'eau, souvent retenu pour l'étude des masses d'eau intérieure n'est en général pas réalisable en mer. Afin de connaître ou contrôler la qualité physico-chimique, le multi échantillonnage est retenu en prenant soin de prélever au dessus et au dessous de la thermocline quand celle-ci est présente. Cet échantillonnage se résume alors à réaliser au moins quatre échantillons dans la colonne d'eau. Un premier à proximité du fond (en général entre un et cinq mètres du fond), un second en deçà de la thermocline, un troisième au dessus et enfin un quatrième à un mètre de la surface. Dans le souci de ne pas décaler dans le temps les prélèvements à ces différents horizons, l'utilisation de bouteilles de prélèvements déclenchées en série est recommandée.

Les bouteilles les plus communément utilisées sont de type « à messager », en matières plastiques inertes pour les multi et mono prélèvements et les bouteilles à renversement ou à bouchon, en verre, pour les prélèvements uniques. Les bouteilles en verre sont d'un usage plus délicat et présentent l'inconvénient de se casser, pouvant occasionner des blessures aux manipulateurs suivant l'état de la mer. De plus leur nettoyage est moins aisé que dans le cas des bouteilles à messager s'ouvrant des deux côtés par les opercules.

Les bouteilles à messager sont disponibles suivant deux positions, horizontales et verticales. Le choix de l'une ou de l'autre doit être fait suivant la connaissance du milieu et principalement de la courantologie ; ainsi que des conditions de la surface de l'eau au droit des prélèvements.

Le déclenchement soit du messager, soit de l'ouverture du bouchon ou du renversement de la bouteille doit se faire lorsque le câble est en position la plus verticale. L'obtention de la verticalité du dispositif et donc l'assurance

que le préleveur est positionné à la profondeur choisie, est obtenue en plaçant un lest suffisant en fin de câble.

Les caractéristiques en termes de composant du câble utilisé (acier, polypropylène, fibre naturelle…) n'influencent pas la qualité de l'eau. Bien évidemment, l'utilisation de câbles métalliques « graissés » est à proscrire. De même, pour les bouteilles à messager, le câble utilisé doit être exempt de marque (étiquette, nœud…) pouvant gêner la libre descente du déclencheur. Rappelons, au risque de faire sourire, que ces bouteilles lors de l'arrivée du messager subissent un choc assez violent et qu'il est nécessaire de bloquer leur position sur le câble sans quoi le risque de les perdre est important.

Les hydrocarbures en surface, repérables grâce aux irisations auront tendances à « tapisser » les parois des bouteilles et donc à introduire un biais dans l'analyse. C'est à notre avis le seul cas dans lequel l'utilisation d'une bouteille à bouchon (fermée lors de sa descente) est à préconiser, si toutefois les prélèvements ne sont pas faits à une profondeur à laquelle la pression de la colonne d'eau rend impossible leur ouverture.

Les bouteilles de prélèvements, une fois fermées, sont entièrement remplies d'eau et la vitesse de remontée, quelle que soit la profondeur atteinte, n'influence pas les caractéristiques de l'eau. Par contre, la différence de pression entre la profondeur du prélèvement et la surface est un paramètre à prendre en compte dans le cas de l'étude de composés dépendants des gaz dissous tel que par exemple les teneurs en oxygène dans le cas d'études comparées entre les nitrites et les nitrates…

La vidange des bouteilles de prélèvement doit respecter une règle, celle de l'utilisation du robinet alors qu'il paraît plus facile d'ouvrir un des deux opercules. Les bouteilles à messager sont munies d'un robinet extérieur dont le débit de sortie d'eau est réglable. Il permet de remplir les flaconnages transmis au laboratoire sans utiliser un entonnoir. Il doit être utilisé afin de limiter les risques de contamination de l'échantillon.

Les normes et modes opératoires, propres à l'analyse de chaque paramètre, indiqueront les températures, délais de garde et autres caractéristiques importantes dont notamment les réactifs de stabilisation à ajouter. Dans tous les cas, les échantillons sont immédiatement conservés à l'abri de la lumière, dans des glacières isothermes avec packs de froid assurant une température inférieure à 6 °C.

Le retour d'expérience de la pratique de prélèvements en mer permet d'indiquer que deux cas sont à mettre en avant. Le premier comprend les prélèvements en front de mer, dans les ports, et en haute mer. Dans ces cas, les échantillonnages sont soit directement conditionnés dans un véhicule, soit sur une embarcation de taille suffisamment importante pour disposer d'un laboratoire, et ad minima des moyens nécessaires en termes de réactifs chimiques et de conservation. Dans ces cas, l'ajout de réactifs selon les normes et préconisations est à faire suivant les paramètres à analyser au fur et à mesure de l'avancement de la campagne.

Le second correspond aux prélèvements dans la bande littorale proche. Les investigations dans cette zone nécessitent une embarcation mais en général de petite taille (entre 5 et 10 mètres). La possibilité de stockage de réactif est en général presque impossible et, suivant l'état de la mer, l'ajout de ces réactifs est des plus délicat, voire dangereux. Dans ce cas, les

flaconnages seront préalablement dotés des réactifs, et leur remplissage devra être fait avec précaution afin de ne pas faire déborder l'échantillon et donc de perdre tout ou partie du réactif.

La stratégie et le pan d'échantillonnage dépendent des objectifs et des critères fixés. Actuellement, suivant les récentes directives visant à la protection des milieux naturels, la qualité des eaux de mer est contrôlée et suivi notamment dans le cas des rejets des effluents de stations d'épuration et de leur impact sur l'environnement. À titre d'exemple, nous indiquons que ces suivis sont réalisés dans l'environnement de l'exutoire des émissaires, à des profondeurs les plus variables (entre 0 et 100 m). La stratégie est de prendre en compte la courantologie et les régimes de vent en s'intéressant plus particulièrement aux impacts négatifs susceptibles d'être engendrés sur le rivage et principalement sur la qualité des eaux de baignade ou sur des activités aquacoles. Le plan d'échantillonnage doit alors prendre en compte ces paramètres de base et en général au moins cinq points ou stations sont investiguées. Une au droit de l'exutoire, trois dans le champ proche en direction des côtes et/ou des activités et enfin deux dans le champ moyen. Les phénomènes de dilution et les réactions chimiques dans la mer font que, généralement, l'influence n'est guère perceptible ou quantifiable dans le champ lointain.

Lors des prélèvements dans la colonne d'eau il est important de connaître ad minima les paramètres température, potentiel hydrogène, potentiel rédox, conductivité, salinité, turbidité et teneurs en oxygène dissous. Ces mesures sont à réaliser au moins à la profondeur des prélèvements mais il est préférable pour l'interprétation des analyses de réaliser des profils suivant la profondeur. Afin de ne pas introduire de biais dans ces interprétations la sonde multi-paramètres est mise en œuvre lors des prélèvements en tête de câble.

■ Flaconnage

Au regard des paramètres envisagés pour les analyses, il sera important d'utiliser des conditionnements spécifiques pour le flaconnage. Caractéristiques du matériau et type de bouchage peuvent avoir une influence sur l'échantillon et le modifier par adsorption, désorption ou diffusion à travers les parois. De même la vaisselle et le conditionnement du flaconnage doit tenir compte des spécificités analytiques.

■ Contamination

Suivant le type d'étude il faut être conscient que l'ensemble des moyens utilisé peut perturber le milieu. Embarcations, engins et matériels de prélèvement sont des sources de contamination. En eau de mer plusieurs composés sont dans des ordres de grandeur très inférieurs à celles observées en eau douce. L'usage de gants à usage unique s'avère être un réflexe indispensable au cours des différentes manipulations de prélèvement et d'échantillonnage.

■ Stockage

Le stockage des échantillons sera possible après détermination de la teneur en oxygène dissous, du *p*H et de l'alcalinité, et élimination des matières en suspension qui, dans le cas du dosage des constituants solubles, doivent

être séparées aussitôt que possible par filtration sur membrane (0,45 μm) pour éviter la fixation des éléments à l'état de traces sur les particules solides ou la mise en solution d'éléments fixés sur ces particules.

La conservation de l'échantillon peut être assurée par réfrigération, congélation ou empoisonnement suivant la situation et le délai avant analyse.

La réfrigération rapide d'un échantillon pré-filtré, à une température comprise entre 0 et 5 °C permet de ralentir les processus biologiques et physico-chimiques. Cependant la réfrigération ne peut s'envisager que pour une courte durée de temps précédant l'analyse (quelques heures à quelques jours).

La congélation s'avère être une technique simple permettant de stopper les processus physico-chimiques comme les processus biologiques. Elle est satisfaisante sur des durées de 5 à 6 mois, pour les nutriments en eau douce comme en eau de mer (Aminot et Kérouel, 1979 ; Clementson et Wayte 1992 ; Avanzino et Kennedy, 1993 ; Dore *et al.*, 1996).

L'empoisonnement des échantillons par ajout de toxiques (chloroforme, mercure, acide) pour stopper l'activité des micro-organismes est une pratique répandue, cependant les résultats restent peu convaincants (Kirkwood 1992).

Pour en savoir plus

Aminot A., Kérouel R. (2004) Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. I, l'hydrologie marine : bases descriptives et analytiques et Chap. II Travaux à la mer et prélèvements.

Bibliographie

A. Aminot, R. Kérouel (1979). Exercice d'intercalibration RNO 1978 : Sels nutritifs (NO_3^-, NO_2^-, PO_4^{3-}). Préparation des échantillons et résultats. In : MECV-Cnexo, Réseau national d'observation de la qualité du milieu marin. Bull. trimestr., 11, p. 1979-214.

R.J. Avanzino, V.C. Kennedy (1993). Long term frozen storage of stream water samples for dissolved orthophosphate, nitrate plus nitrite, and ammonia analysis. Water Resour. Res., 29, (10), p. 3357-3362.

L.A. Clementson, S.E. Wayte (1992). The effect of frozen storage of open ocean sea water samples on the concentration of dissolved phosphate and nitrate. Water Res. 26 (9), p. 1171-1176.

J.E. Doré, T. Houlihan, D.V. Hebel, G. Tien, L. Tupas, D.M. Karl (1996). Freezing as a method of sample preservation for the analysis of dissolved inorganic nutrients in sea water. Mar. chem., 53, p. 173-185.

D.S. Kirkwood (1992). Stability of solution of nutrients salts during storage. Mar. Chem., 38, p. 151-164.

J.P. Riley (1965). Historical introduction. In : Chemical oceanography (Riley and Skirrow eds.). Academic Press, London, vol. 1, p. 1-41.

2 • MESURE DU *p*H

Principe

La mesure sur l'échantillon se réalise de façon classique avec un *p*H-mètre permettant la lecture au 1/100 d'unité. Cette méthode est décrite au chapitre A pour les eaux naturelles (§ A-5.3.2).

Cette méthode ne comporte pas de correction, elle est applicable à l'ensemble des eaux douces et marines. Elle repose sur l'utilisation d'électrodes commerciales et de tampons NIST (National Institute of Standards and Technology ex-NBS, National Bureau of Standards, ancienne organisation de normalisation aux États-Unis).

Le pH est mesuré dans les 2 heures après le prélèvement. Les électrodes utilisées peuvent être combinées ou séparées. L'étalonnage est réalisé en utilisant des solutions étalons commerciales dont les gammes se référent aux normes DIN, NIST, IUPAC. Classiquement les étalons commerciaux utilisés ont des pH voisins de 4, 7 et 9. L'étalonnage est à réaliser avant chaque série de mesures. La mesure du pH des échantillons se fait à 20 °C ±3.

Correction entre le *p*H mesuré et le *p*H *in situ*

Soit pH_s et t_s le *p*H et la température de l'eau au moment du prélèvement et pH_m et t_m le *p*H et la température au moment de la mesure, la relation qui lie pH_s et pH_m est

$$p\,H_s = p\,H_m - \alpha\,(t_s - t_m)$$

Dans la pratique, la formule simplifiée suivante suffira dans la plupart des cas :

$$pH_s \simeq pH_m - 0{,}01° \,\Delta t$$

Néanmoins, les valeurs de α sont données par le tableau ci-joint pour différentes salinités (S ‰) ou chlorinité (Cl ‰).

Une correction due à la pression est donnée par :

$$pH_d = pH_m - \alpha\,(t_s - t_m) - \beta d$$

d : Profondeur en mètres.

βd n'est significatif que pour des profondeurs $>$ 500 m.

La valeur de β est donnée dans le tableau ci-joint pour différentes salinités (S ‰) ou chlorinité (Cl ‰).

Corrections de température pour les mesures de *p*H. Valeurs de α

pH_m	*S* = 18 ‰ *Cl* = 10 ‰			*S* = 27 ‰ *Cl* = 15 ‰		
	t (°C) 0-10	*t* (°C) 10-20	*t* (°C) 20-30	*t* (°C) 0-10	*t* (°C) 10-20	*t* (°C) 20-30
	α	α	α	α	α	α
7,4	0,0087	0,0084	0,0069	0,0088	0,0087	0,0076
7,6	0,0092	0,0092	0,0079	0,0095	0,0096	0,0083
7,8	0,0100	0,0101	0,0089	0,0103	0,0105	0,0090
8,0	0,0108	0,0109	0,0094	0,0110	0,0112	0,0094
8,2	0,0114	0,0115	0,0098	0,0115	0,0117	0,0096
8,4	0,0117	0,0117	0,0099	0,0118	0,0118	0,0098
	S = 35 ‰ *Cl* = 19,5 ‰			*S* = 38 ‰ *Cl* = 21 ‰		
7,4	0,0089	0,0087	0,0081	0,0092	0,0089	0,0079
7,6	0,0095	0,0095	0,0091	0,0097	0,0098	0,0088
7,8	0,0104	0,0104	0,0098	0,0106	0,0108	0,0093
8,0	0,0110	0,0109	0,0102	0,0112	0,0114	0,0096
8,2	0,0114	0,0112	0,0103	0,0116	0,0116	0,0098
8,4	0,0116	0,0114	0,0104	0,0118	0,0119	0,0100

S = Salinité. *Cl* = Chlorinité.

Corrections de pression pour les mesures de *p*H. Valeurs de β

pH_s	$\beta \times 10^6$	pH_s	$\beta \times 10^6$
7,5	35	8,0	22
7,6	31	8,1	21
7,7	28	8,2	20
7,8	25	8,3	20
7,9	23	8,4	20

Pour en savoir plus

A. Aminot, R. Kérouel (2004) Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336 p., Chap. VIII, Mesure électrochimique du pH.

3 • SALINITÉ

La mesure de la salinité est une variable indispensable à la description du milieu marin, elle est souvent associée à la mesure de la température. Bien qu'elle soit considérée comme représentant le contenu en sels dissous de l'eau de mer, il faut être conscient qu'elle ne correspond pas à la mesure exacte de ce contenu en sels. La salinité doit être considérée comme un concept pratique (Aminot 2004). La salinité est un nombre sans dimension. À l'origine, elle était exprimée en « pour mille » (*S* ‰).

La teneur en sels dissous de l'eau de mer peut être mesurée et exprimée de différentes manières suivant que l'on considère l'ensemble des corps dissous ou seulement les sels dominants.

■ Définitions

La salinité : Théoriquement, la salinité désigne la masse totale de substances solides dissoutes dans un kilogramme d'eau de mer. Devant les difficultés pratiques et le manque de reproductibilité dans les mesures pondérales pour déterminer cette masse, une commission internationale a mis en place un protocole opératoire à l'origine de la définition de la salinité donnée en 1902.

Ainsi selon Sørensen (1902), la salinité est définie comme la masse exprimée en grammes des composés solides contenus dans un kilogramme d'eau de mer, les ions bromure et iodures étant remplacés par leur équivalent de chlorure, les carbonates convertis en oxydes et toute la matière organique oxydée. La salinité était alors notée S et s'exprimait en g/kg ou en ‰.

Cette définition ne pouvant être applicable en routine, la notion de chlorinité a été mise en avant en se basant sur le fait que le chlorure qui représente 55 % de la salinité pouvait être mesuré avec précision.

En 1981, la salinité selon le protocole de 1902 a été abandonnée (Unesco 1981) au profit de la salinité absolue (S_A) et de la salinité pratique S, reliée à la conductivité électrique. Salinité absolue et pratique s'expriment par des nombres sans dimension.

La chlorinité : En 1940 Jacobsen et Knusden reprécisent la définition de la chlorinité. Elle correspond au nombre donnant la masse d'argent en grammes, nécessaire à la précipitation des halogénes dans 0,3285234 kilogrammes d'eau de mer.

En 1985, l'UNESCO modifie légèrement la définition de Jacobsen et Knusden. La chlorinité d'un échantillon représente 0,328523 fois le rapport de la masse d'argent précipitée avec les halogénures présents dans l'échantillon d'eau de mer à la masse de l'échantillon.

La chlorosité : est définie comme la masse d'halogénures (à l'exception du fluor) exprimée en grammes de chlore par kilogramme d'eau de mer.

Expression de la salinité

Compte tenu de la difficulté de la mesure directe de la salinité ainsi exprimée, Knudsen a proposé un calcul de la salinité à partir de la chlorinité : S ‰ = 0,030 + 1,8050 Cl ‰ (Cl ‰ étant la masse d'halogénures, exprimée en chlorures, obtenue à partir de 1 kg d'eau de mer).

Au cours des années 1950, de nombreux travaux ont été menés en vue de relier les grandeurs mesurées. Plusieurs organisme internationaux ont établi et publié en 1956 des tables océanographiques internationales. Depuis 1969 une nouvelle relation empirique, plus précise entre la salinité et la chlorinité est entrée en vigueur : S‰ = 1.80655 × Cl ‰.

Conductivité et salinité

La forte concentration en sels dissous confère à l'eau de mer une forte conductivité. Les concentrations des différents ions étant proportionnelles, la salinité peut être mesurée par conductivité avec une grande précision.

Expression de la chlorinité et de la chlorosité

La majeure partie des sels dissous dans l'eau de mer existe sous forme d'halogénures qui, à l'exception du fluor, sont globablement déterminés par argentimétrie. La chlorinité étant rapportée à une masse d'eau de mer, il est préférable, dans la pratique, d'exprimer le dosage des halogénures en terme de chlorosité qui se rapporte à un *volume*. Diverses tables de correspondance et des méthodes graphiques de calcul de la chlorinité à partir de la chlorosité ont été établies et publiées par Menache (1954), Kalle (1955) et Marvin (1957).

3.1 Dosage des halogénures

3.1.1 Méthode de Mohr et adaptation de Knudsen

À partir de la méthode classique de dosage des ions chlorure par la méthode de Mohr (cf. § A-7.19.1), M. Knudsen a adapté un protocole pour l'eau de mer (méthode de Mohr-Knudsen) Le dosage des halogénures se faisant par volumétrie, on utilise la notion de chlorosité (cf. définitions ci-dessus).

La métode de Mohr donne une précision de l'ordre de 3.10^{-3} insuffisante pour l'étude des eaux marines qui demandent des mesures en halogènes avec une erreur relative inférieure à 5.10^{-4}. Knudsen en 1901 parvint à obtenir la précision requise en adaptant le protocole de manière rigoureuse (Copin-Montegut 1989).

Principe

Les chlorures et les bromures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

☐ **Matériel spécial**

– Agitateur électromagnétique.

– Burette automatique.

☐ **Réactifs**

– Solution de chromate de potassium à 5 %.

– Solution de nitrate d'argent 0,2 *N*.

■ Mode opératoire

Dans un bécher de 50 mL contenant un barreau aimanté, verser 10 mL d'échantillon, 10 gouttes de solution de chromate de potassium et 10 mL d'eau permutée. Immerger la pointe de la burette, entretenir une agitation assez vigoureuse de façon à briser les grumeaux qui se forment lors de l'ajout de la solution de nitrate d'argent. Introduire celle-ci de façon régulière à l'aide de la burette automatique. Aux approches du point équivalent, la couleur de la solution passe du vert-jaune au jaune, mais celui-ci est atteint lorsque la couleur jaune vire au rouge pâle, couleur qui doit persister 1 minute. Soit v le nombre de millilitres de nitrate d'argent utilisés.

La précision du dosage est améliorée en remplaçant l'indicateur au bichromate par le réactif de Miyake (solution à 1 % d'amidon et 0.01 % de fluorescamine de sodium).

■ Expression des résultats

Étant donné que 1 mL de solution de nitrate d'argent 0,2 *N* correspond à 7,09 mg d'ion chlore :

$$\frac{v \times 7{,}09}{10}$$

donne la teneur en chlorures exprimée en milligrammes de Cl^- par litre d'eau de mer.

3.1.2 Méthode potentiométrique

■ Principe

La variation de la force électromotrice E entre deux électrodes en fonction des volumes V de réactifs ajoutés permet la détermination du point équivalent du dosage. La courbe $E = f(V)$ est tracée soit à l'aide d'un enregistreur et d'une burette automatique couplée à celui-ci, soit en notant pour chaque volume ajouté ΔV la valeur correspondante de E.

☐ **Matériel spécial**

– Agitateur électromagnétique.

– Millivoltmètre à affichage numérique.

– Burette automatique précise au 1/100 et enregistreur couplés de façon que le déroulement du papier soit proportionnel au volume délivré par la burette.

– Électrodes :

- électrode de référence : calomel avec pont nitrate de potassium, agar-agar ou argent/nitrate d'argent avec pont nitrate de potassium ;
- électrode indicatrice : argent ou platine.

☐ **Réactif**

– Solution de nitrate d'argent 0,2 *N*.

■ Mode opératoire

Introduire dans un bécher de 50 mL, contenant un barreau aimanté, 5 mL d'échantillon et 25 mL d'eau permutée. Plonger les électrodes ainsi que la pointe de la burette et verser la solution de nitrate d'argent au moyen de la burette automatique.

Détermination du point équivalent

– Par la méthode de la dérivée

Dans le cas où la courbe $E = f(V)$ est enregistrée, déterminer le point équivalent au moyen de $\frac{\Delta E}{\Delta V}$.

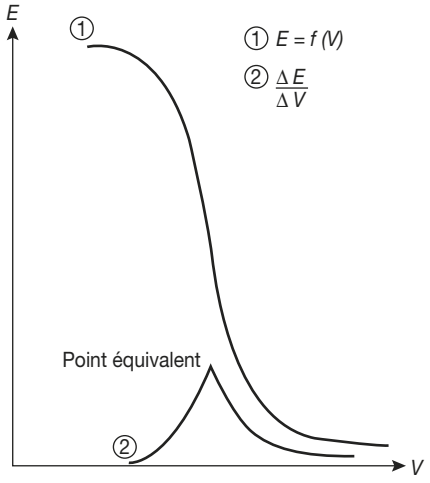
Il correspond au point d'inflexion de la courbe

au point où $\frac{d^2(E)}{dV^2} = 0$.

$\left|\frac{dE}{dV}\right|$ correspond au maximum en valeur absolue.

En pratique calculer $\frac{\Delta E_n}{\Delta V}$ et reporter cette valeur au point abscisse

$$\frac{V_n + V_{n-1}}{2}$$



Courbe dérivée

La teneur en chlorures exprimée en milligrammes de chlore par litre d'eau de mer est donnée par :

$$\frac{v \times 7{,}09}{5}$$

La courbe est construite à partir des lectures E_1, E_2, ..., E_{n-1}, E_n, données par le millivoltmètre pour les descentes de burettes correspondantes V_1, V_2, ..., V_{n-1}, V_n.

Il existe des enregistreurs traçant directement la courbe dérivée.

– Par la méthode de Gran.

Le point équivalent peut aussi être déterminé par la méthode de Gran, pour cela :

Titrer 5 mL d'eau de mer diluée avec 25 mL d'eau permutée par du nitrate d'argent 0,1 *N* en présence d'électrode de référence argent/nitrate d'argent avec pont nitrate de potassium et électrode indicatrice argent.

Soit V le volume de nitrate d'argent versé et V_e le volume de nitrate d'argent au point équivalent.

Au voisinage du point équivalent, la force ionique et le potentiel de jonction étant constant, on a la relation (1) :

$$E = E_0 + 58 \log |Ag^+| \quad (E_0 : \text{potentiel initial})$$

Avant le point équivalent, il reste en solution (*) :

$$(5 + V)\,(|Br^-| + |Cl^-|) = m_{Cl^-} + m_{Br^-} - 0{,}1\ V$$

et au point équivalent, on a :

$$0{,}1\ V_e = m_{Cl^-} + m_{Br^-} \Rightarrow (5 + V)(|Br^-| + |Cl^-|) = (V_e - V)\ 0{,}1$$

D'autre part :

$$|Ag^+|.|Cl^-| = 10^{-9,8}$$

$$|Ag^+|.|Br^-| = 10^{-12,4} \Rightarrow |Br^-| + |Cl^-| = \frac{10^{-9,8} + 10^{-12,4}}{|Ag^+|}$$

$$(5 + V)\ \frac{1}{|Ag^+|} = (V_e - V)\ 0{,}1\ \frac{1}{10^{-9,8} + 10^{-12,4}}$$

D'après la relation (1) :

$$|Ag^+|^{-1} = 10^{\frac{E - E_0}{58}} \Rightarrow (5 + V)\ 10^{\frac{E - E_0}{58}} = (V_e - V)\ \frac{1}{10^{-9,8} + 10^{-12,4}}$$

Soit : $$F = (5 + V)\ 10^{\frac{E - E_0}{58}}$$

Il est clair que pour $V = V_e$, on aura $F = 0$.

Tracer sur papier semi-logarithmique la courbe $F = f(V)$, on doit avoir une droite qui coupera l'axe ds x au point équivalent :

$$V = V_e \Rightarrow F = 0$$

(*) $|Br^-|$, $|Cl^-|$: Nombre de milliéquivalents de bromure et de chlorure précipités par V mL de nitrate d'argent 0,1 *N*.
m_{Br^-}, m_{Cl^-} = nombre de milliéquivalents de bromure et de chlorure précipités par V_e mL de nitrate d'argent, au point équivalent.

Dans la pratique, on obtient une portion de droite dont les extrémités sont recourbées et le point équivalent qui correspond à la valeur théorique $F = 0$ s'obtient en extrapolant la portion de droite obtenue jusqu'à son intersection avec l'axe des x. Il existe des papiers spéciaux permettant d'obtenir une droite.

Bibliographie

K.E. Harwel (1954). *Analyst. chem.,* **26**, p. 616.

M. Menache (1954). *J. Const. int. Explor. Med.*, **39**, p. 301.

K. Kalle (1955). *Dtsch. hydroge.*, Z. **8**, p. 29.

K.T. Marvin (1957). *Limnol.oceanogr.*, **2**, p. 371.

D. Dyrssen, D. Jagner (1966). A Gran titration to determine the chlorinity of sea water. *Anal. chim. acta*, **35**, p. 507.

Joint Panel on oceanographic tables and standards 1966. *International oceanographic tables*. UNESCO Publications Center, New York.

J. Lyman (1969). Redefinition of salinity and chlorinity. *Limnology and oceanography*, **14**, (6), p. 928.

3.2 Mesure de la conductivité électrique

La mesure de la salinité par conductimétrie est désormais couramment utilisée. Elle s'effectue en laboratoire avec des salinomètres de précision spécialement conçus pour l'eau marine ou bien *in situ* à l'aide de sondes océanographiques. La méthode est rapide simple, précise et l'utilisation des salinomètres ou des sondes, réduit considérablement le temps d'analyse.

■ Mesure en laboratoire

Deux types de salinomètres se sont généralisés : le salinomètre à électrodes et le salinomètre à induction. Dans le cas du salinomètre à électrodes, celles-ci sont en contact direct avec l'eau de mer, introduite dans une cellule immergée dans un bain thermostaté.

Dans le cas de salinomètre à induction, l'eau de mer introduite dans une cellule forme un anneau conducteur mettant en liaison deux transformateurs. L'un crée un courant induit dans l'anneau d'eau de mer. Ce courant crée alors une tension aux bornes de l'autre transformateur qui est amplifiée et mesurée. La température est compensée par une résistance. La gamme de mesure de salinité peut aller de 2 à 42. (PSS78). Une correction de dérive serra, si nécessaire, appliquée aux rapports de conductivité ou aux salinités fournies par le salinomètre. Cette correction est évaluée par la lecture d'étalons à intervalles réguliers. La dérive est calculée sur l'intervalle de temps considéré et reportée linéairement sur les échantillons intermédiaires en arrondissant au dernier chiffre significatif.

■ Conductimètre avec conversion en salinité

Ce type d'appareil mesure simultanément la température et la conductivité. Seule la mention explicite que la salinité est calculée selon les formules océanographiques publiées par l'UNESCO confirme qu'il s'agit bien de la salinité au sens marin du terme.

Mesure *in situ*

In situ la salinité est mesurée à l'aide de sondes océanographique ou sonde CTD (*Conductivity, Temperature Depth*). Elles sont constituées par des cylindres étanches, résistants à la pression, contenant un équipement électronique permettant d'interroger des capteurs situés à l'extérieur du cylindre, en contact avec l'eau. Les sondes sont habituellement équipées d'une jauge de pression, d'un capteur de température et d'un capteur de conductivité. Les données recueillies à partir des capteurs sont codées et transmises par le système électronique vers un micro-ordinateur.

Pour en savoir plus

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. V, Mesure de la salinité.

G. Copin-Montegut (1989). Physico-chimie de l'eau de mer. Cours d'océanographie, collection dirigée par P. Boigis, G. Grau, A. Ivanoff. Océanis 15 : 1-142.

Bibliographie

S. Pl. Sørensen (1902). Enzymstudien. II. Mitteilung über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei Enzymatische Prozessen. Biochem. Z., 21, p. 131-304.

J. P. Jacobsen, M. Knusden (1940). Unormal 1937 or primary standard sea water 1937. Int. Union Geodesy Geophys., Assoc. Phys. Oceanogr. Publ. sci., 7, 38 p.

P. K. Weyl (1964). On the change in electrical conductance of sea water with temperature. *Limnology and oceanography*, **9**, (1), p. 75.

W. S. Wooster (1969). Redefinition of salinity. *Limnology and oceanography*, **14**, (3), p. 437.

J. Lyman (1969). Redefinition of salinity and chlorinity, *Limnology and oceanography*, **14**, (6), p. 928.

Unesco (1981). Tenth report of the joint panel on oceanographic tables and standards. UNESCO Technical Papers in Marine Science, n° 36, p. 25.

G. Copin-Montegut (1989). Physico-chimie de l'eau de mer. Cours d'océanographie, collection dirigée par P. Boigis, G. Grau, A. Ivanoff. Océanis, 15, p. 1-142.

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336 p.

4 • ALCALINITÉ

4.1 Alcalinité totale

L'alcalinité de l'eau de mer est essentiellement due à la présence de carbonates, hydrogénocarbonates et borates.

Elle est définie comme étant la quantité d'ions hydrogènes (mmole) nécessaire à la neutralisation des bases faibles contenues dans un 1 kg d'eau de mer (Almgren et al. 1983). En 1981 Dickson précise la définition en suggérant que ces bases formées à partir d'acides faibles de pk < 4.5 soient considérées comme des accepteurs de protons.

Indépendante des variations du pH et plus globalement des variations du système des carbonates, elle correspond à la balance des charges électriques portées par les ions majeurs de l'eau de mer (Copin-Montegut 1989).

Exprimée en concentration, elle peut être schématisée ainsi :

$$\text{alcalinité totale} = [HCO_3^-] + 2\,[CO_3^{--}] + [H_2BO_3^-] + [OH^-] + [H^+]$$

$[OH^-]$ et $[H^+]$ sont négligeables entre *p*H 5,3 et 8,7.

La mesure par la méthode de Dyrssen est très précise mais elle s'applique mal aux dosages en série. Par contre, la méthode de Anderson et Robinson est très pratique ; elle peut également être très précise moyennant certaines précautions.

4.1.1 Méthode de Dyrssen

Parmi les méthodes décrites dans la littérature internationale, celle de Dyrssen, considéré comme l'un des pères fondateurs de la chimie marine suédoise, est particulièrement utilisée.

■ Principe

Le dosage est effectué par une méthode potentiométrique et l'alcalinité déterminée graphiquement par la méthode de Gran.

□ Matériel spécial

– *p*H-mètre permettant d'apprécier au moins le 1/100 d'unité.

□ Réactifs

– Eau de mer artificielle :

chlorure de sodium	25,9 g
chlorure de magnésium ($MgCl_2$, 6 H_2O)	13,6 g

sulfate de sodium (Na_2SO_4 , 10 H_2O)		9,4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution d'acide chlorhydrique 0,1 *N* préparée avec de l'eau de mer artificielle.

Mode opératoire

Introduire dans un bécher de 150 mL, contenant un barreau aimanté, 100 mL d'eau de mer. Plonger l'électrode du *p*H-mètre, verser l'acide chlorhydrique 0,1 *N* au moyen d'une burette par fraction de 0,2 mL jusqu'à *p*H 2. Noter la valeur du *p*H pour chacune de ces fractions.

Tracer sur papier semi-logarithmique la courbe.

$$F = (V_0 + V)\ 10^{-pH} \text{ en fonction de } V$$

V_0 = Volume initial.

V = Volume d'acide chlorhydrique versé.

V étant négligeable par rapport à V_0, il est donc possible de tracer la courbe $F = V_0 \,.\, 10^{-pH}$ en fonction de V sans trop de risque d'erreur. La courbe ainsi tracée se présente sous forme d'une droite qui s'incurve vers les valeurs extrêmes.

Expression des résultats

Le point équivalent V déterminant l'alcalinité totale s'obtient en extrapolant la portion droite de la courbe jusqu'à $F = 0$.

V représente l'alcalinité totale exprimée en milliéquivalents.

4.1.2 Méthode de Anderson et Robinson

Principe

Il s'agit d'une méthode *p*H-métrique proposée en 1946.

L'alcalinité totale de l'eau de mer est déterminée, après addition d'une quantité connue d'acide chlorhydrique, par mesure du *p*H.

Matériel spécial

– *p*H-mètre permettant d'apprécier le 1/100 d'unité.

Réactifs

– Solution tampon *p*H 4 :

hydrogénophtalate de potassium		10,21 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Acide chlorhydrique 0,01 *N*.

Mode opératoire

Dans un bécher de 150 mL contenant un barreau aimanté introduire 100 mL d'eau de mer, puis 25 mL d'acide chlorhydrique 0,01 *N* mesurés avec précision ; effectuer la mesure du *p*H après avoir étalonné l'électrode au moyen de la solution tampon *p*H 4.

Expression des résultats

L'alcalinité totale Alc est le nombre de milliéquivalents d'ions H^+ nécessaires à la neutralisation de l'eau. Elle est déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{Alc} = \frac{1\,000}{V} \text{ (mEq d'ions hydrogène introduit – mEq d'ions hydrogène restant)}$$

$$= \frac{1\,000}{V} \left(V'N - (V + V')\,[H^+]\right)$$

V = Volume d'échantillon prélevé, en millilitres (100).
V' = Volume d'acide chlorhydrique introduit, en millilitres (25).
N = Normalité de l'acide chlorhydrique (0,01 N).

D'où :

$$\text{Alc} = 10\,(0{,}25 - 125\,[H^+])$$
$$\text{Alc} = 2{,}5 - 1\,250\,[H^+]$$

D'autre part la concentration en ions H^+ est liée à l'activité de l'ion H^+ par la relation :

$$a_{H^+} = [H^+]\,\gamma_{H^+}$$

a_{H^+} = Activité de l'ion hydrogène.
$[H^+]$ = Concentration en ion hydrogène.
γ_{H^+} = Constante dépendant de la salinité (chlorures) et du *p*H du milieu (désionisation de l'anhydride carbonique) déterminée expérimentalement ; elle est donnée par le tableau ci-après pour des valeurs de *p*H comprises entre 2,9 et 3,9.

Cl (g/L)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
γ_{H^+}	0,845	0,782	0,770	0,760	0,755	0,752	0,752	0,754	0,754	0,758

Or, par définition, le *p*H est le logarithme de l'inverse de l'activité de l'ion hydrogène :

$$pH = \log \frac{1}{a_{H^+}} = -\log a_{H^+}$$

d'où :

$$pH = -\log [H^+]\,\gamma_{H^+}$$

et :

$$\text{Alc} = 2{,}5 - 1\,250\,\frac{10^{-pH}}{\gamma_{H^+}}$$

En décomposant la valeur numérique du *p*H en deux parties : a et b (a = nombre entier, b = décimale) :

$$pH = a + b$$

et :

$$10^{-pH} = 10^{-a} \,.\, 10^{\,b}$$

La valeur de 10^{-b} est donnée par le tableau ci-après.

L'alcalinité est alors égale à :

$$2{,}5 - \frac{1\,250 \,.\, 10^{-a}}{\gamma_{H^+}} \,.\, 10^{-b}$$

Remarques

– Le calcul n'est valable que pour un *p*H final compris entre 2,9 et 3,9.

– Pour des valeurs de *p*H inférieures ou supérieures, modifier le volume d'acide chlorhydrique de façon à se trouver dans ces limites. La formule devient alors :

$$\text{Alc} = 0{,}1\ V' - 10\ (100 + V')\ .\ \frac{10^{-pH}}{\gamma_{H^+}}$$

V' = Volume d'acide chlorhydrique utilisé.

4.2 Alcalinité carbonatée

Soit B l'alcalinité due aux carbonates des eaux carbonatées exprimée en milliéquivalents par litre :

$$B = [HCO_3^-] + 2\ [CO_3^{--}] = \text{alcalinité totale} - A$$

A est l'alcalinité due aux ions BO_3H^-, OH^-, H^+.

L'alcalinité due à ces ions est fonction de la chlorinité, du *p*H et de la température *in situ* (pH_s, t_s). La valeur de $A.10^2$ est donnée par les tables ci-après en fonction du *p*H et pour différentes salinités (S ‰) ou chlorinité (Cl ‰).

4.3 Carbone minéral total

Soit C la concentration en carbone minéral total exprimée en millimoles par litre : $[CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{--}]$:

$$C = \text{alcalinité due aux carbonates} \times Ft$$

Ft est fonction de la chlorinité, du *p*H et de la température *in situ* (pH_s, t_s).

Ft est donné par les tables ci-après en fonction du *p*H et pour différentes salinités (S ‰) ou chlorinité (Cl ‰).

4.4 Pression partielle en CO_2 et concentration en CO_2 libre

La concentration en anhydride carbonique dissous est fonction de la pression en CO_2 :

$$[CO_2] = P_{CO_2} \times \delta$$

$$P_{CO_2} = \text{alcalinité due aux carbonates} \times Fp$$

Fp est fonction de la chlorinité, du *p*H et de la température *in situ* (pH_s, t_s). Il est donné par les tables ci-après en fonction du *p*H et pour différentes salinités (S ‰) ou chlorinité (Cl ‰).

δ est la solubilité de l'anhydride carbonique dissous dans l'eau de mer. Il dépend de la chlorinité et de la température *in situ* (t_s) et est donné par la table ci-après.

4.5 Concentration en hydrogénocarbonates

Soit *K* la constante de dissociation de l'équilibre :

$$CO_3\,H^- \rightleftharpoons CO_3^{--} + H^+.$$

$$K = \frac{a_{H^+} \times a_{CO_3^-}}{a_{CO_3H^-}} = a_{H^+} \times \frac{CO_3^{--}}{CO_3H^-}$$

D'autre part l'alcalinité due aux carbonates *B* est égale à :

$$B = [CO_3\,H^-] + 2\,[CO_3^{--}]$$

d'où $HCO_3^- \simeq \dfrac{a_H}{a_{H^+}\ 2\,K}$ *B* en millimoles par litre

avec : $a_H = 10^{-pH} = 10^{-a}\,.\,10^{-b}$

b étant la partie décimale du *p*H qui est donnée par le tableau des valeurs de 10^{-b}.

4.6 Concentration en carbonates

$$[CO_3^{--}] = [CO_3\,H^-] \times \frac{K}{a_{H^+}} = B \times \frac{K}{a_{H^+} \times\ 2\,K} \text{ en millimoles par litre}$$

Bibliographie

D.H. Anderson, R.J. Robinson (1946). *Ind. Eng. Chem. Anal.*, **18**, p. 767.

D.H. Anderson, R.J. Robinson (1946). Rapid electrometric determination of the alkalinity of sea water using a glass electrode**.** Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition. 18, p. 767-769

G. Gran (1952). *Analyst*, **77**, p. 661.

D. Dyrssen (1965). *Acta Chem. Scand.*, **19**, p. 1265.

D. Dyrrsen (1965). A Gran titration of seawater aboard the Sagitta. Acta Chemica. Scan., 19, 1265. A. Dickson (1981). An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. Deep-Sea Research 28A, p. 609-623.

T. Almgren, D. Dyrssen, S. Fonselius (1983). Determination of alkalinity and total carbonate. *In*: Methods of Seawater Analysis. Second revised and extended edition. Grasshoff K., Ehrhardt M., Krembling K. (ed), Verlag Chemie. 419 p.

G. Copin-Montegut (1989). Physico-chimie de l'eau de mer. Cours d'océanographie, collection dirigée par P. Boigis, G. Grau, A. Ivanoff. Océanis, 15, p. 1-142.

Tableau des valeurs de 10^{-b}

b	10^{-b}	*b*	10^{-b}	*b*	10^{-b}
0,00	1,000	0,34	0,457	0,67	0,214
0,01	0,977	0,35	0,447	0,68	0,209
0,02	0,955	0,36	0,437	0,69	0,204
0,03	0,933	0,37	0,427	0,70	0,200
0,04	0,912	0,38	0,417	0,71	0,195
0,05	0,891	0,39	0,407	0,72	0,191
0,06	0,871	0,40	0,398	0,73	0,186
0,07	0,851	0,41	0,389	0,74	0,182
0,08	0,832	0,42	0,380	0,75	0,178
0,09	0,813	0,43	0,372	0,76	0,174
0,10	0,794	0,44	0,363	0,77	0,170
0,11	0,776	0,45	0,355	0,78	0,166
0,12	0,759	0,46	0,347	0,79	0,162
0,13	0,741	0,47	0,339	0,80	0,158
0,14	0,725	0,48	0,331	0,81	0,155
0,15	0,709	0,49	0,324	0,82	0,151
0,16	0,692	0,50	0,316	0,83	0,148
0,17	0,676	0,51	0,309	0,84	0,144
0,18	0,661	0,52	0,302	0,85	0,141
0,19	0,646	0,53	0,295	0,86	0,138
0,20	0,631	0,54	0,288	0,87	0,135
0,21	0,617	0,55	0,282	0,88	0,132
0,22	0,603	0,56	0,275	0,89	0,129
0,23	0,589	0,57	0,269	0,90	0,126
0,24	0,575	0,58	0,263	0,91	0,123
0,25	0,562	0,59	0,257	0,92	0,120
0,26	0,549	0,60	0,251	0,93	0,117
0,27	0,537	0,61	0,245	0,94	0,115
0,28	0,525	0,62	0,240	0,95	0,112
0,29	0,513	0,63	0,234	0,96	0,110
0,30	0,501	0,64	0,229	0,97	0,107
0,31	0,490	0,65	0,224	0,98	0,105
0,32	0,479	0,66	0,219	0,99	0,102
0,33	0,468				

Alcalinité carbonatée
Valeurs de A . 10^2

$pH_{s\,(d)}$ (*)	°C = 0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
							Cl = 15 ‰		*S* = 27 ‰							
7,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7,4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
7,5	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
7,6	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7,7	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
7,8	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4
7,9	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
8,0	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5
8,1	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6
8,2	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8
8,3	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	9	9	9	9
8,4	7	7	8	8	8	8	9	9	9	9	10	10	10	10	11	11
8,5	8	9	9	9	10	10	10	10	11	11	11	11	12	12	12	13
8,6	10	10	11	11	11	12	12	12	12	13	13	13	14	14	14	14
8,7	12	12	12	13	13	13	14	14	14	14	15	15	16	16	16	16
8,8	15	15	15	15	16	16	17	17	17	17	18	18	18	19	19	19
							Cl = 17 ‰		*S* = 31 ‰							
7,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
7,4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
7,5	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7,6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
7,7	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4
7,8	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
7,9	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5
8,0	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6
8,1	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	8	8	8
8,2	6	6	6	6	7	7	7	7	8	8	8	8	9	9	9	9
8,3	7	7	8	8	8	8	9	9	9	9	10	10	10	11	11	11
8,4	8	9	9	9	10	10	10	11	11	11	11	12	12	12	13	13
8,5	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15
8,6	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	15	16	16	16	17	17
8,7	14	14	15	15	16	16	16	16	17	17	18	18	18	19	19	19
8,8	17	17	18	18	19	19	19	20	20	20	21	21	21	22	22	23

(*) Se reporter au paragraphe C-2 pour la correction *p*H.

Alcalinité carbonatée (*suite*)
Valeurs de A . 10^2

$pH_{s\,(d)}$ (*)	°C = 0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
						Cl = 19 ‰				*S* = 34 ‰						
7,3	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7,4	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7,5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3
7,6	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
7,7	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4
7,8	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5
7,9	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6
8,0	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	8
8,1	6	6	6	6	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9	9
8,2	7	7	7	8	8	8	9	9	9	9	10	10	10	10	11	11
8,3	8	9	9	9	10	10	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13
8,4	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15
8,5	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	16	16	16	17	17	17
8,6	14	14	15	15	16	16	16	17	17	18	18	18	19	19	19	20
8,7	16	16	17	17	18	18	19	19	19	20	20	20	21	21	22	22
8,8	19	20	20	21	21	22	22	22	23	23	24	24	24	25	25	25
						Cl = 21 ‰				*S* = 38 ‰						
7,3	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2
7,4	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3
7,5	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3
7,6	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4
7,7	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5
7,8	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6
7,9	4	4	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7
8,0	5	6	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	9	9
8,1	7	7	7	7	8	8	8	8	9	9	9	10	10	10	10	11
8,2	8	8	9	9	9	10	10	10	10	11	11	11	12	12	12	13
8,3	10	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	14	14	14	15	15
8,4	11	11	11	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	15	16	16
8,5	14	14	14	15	15	16	16	17	17	17	18	18	19	19	20	20
8,6	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	22	23
8,7	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23	24	24	24	25	25
8,8	22	22	23	23	24	24	25	25	26	26	27	27	28	28	28	29

(*) Se reporter au paragraphe C-2 pour la correction *p*H.

Carbone minéral total
Valeurs de *Ft*

$pH_{s\,(cl)}$	°C = 0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
							Cl = 15 ‰		*S* = 27 ‰							
7,3	1,07	1,06	1,06	1,06	1,05	1,05	1,05	1,05	1,04	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03
7,4	1,05	1,05	1,04	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02
7,5	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00
7,6	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99
7,7	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	99	98	98
7,8	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	99	98	98	98	98	97	97	97
7,9	99	99	99	99	98	98	98	98	98	97	97	97	97	96	96	96
8,0	98	98	98	98	97	97	97	97	96	96	96	96	95	95	95	94
8,1	97	97	97	97	96	96	96	96	95	95	95	94	94	93	93	93
8,2	96	96	96	95	95	95	95	94	94	93	93	93	92	92	91	91
8,3	95	95	94	94	94	93	93	93	92	92	91	91	90	90	89	89
8,4	93	93	93	92	92	92	91	91	90	90	89	89	88	88	87	86
8,5	92	91	91	91	90	90	89	89	88	88	87	86	86	85	85	84
8,6	90	89	89	89	88	88	87	87	86	85	85	84	83	83	82	81
							Cl = 17 ‰		*S* = 31 ‰							
7,3	1,06	1,06	1,06	1,05	1,05	1,05	1,04	1,04	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03
7,4	1,05	1,04	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01
7,5	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00
7,6	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99
7,7	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	98	98	98	98
7,8	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	98	98	98	98	98	97	97	97	96
7,9	99	99	99	98	98	98	98	97	97	97	97	96	96	96	95	95
8,0	98	98	97	97	97	97	96	96	96	96	95	95	95	94	94	94
8,1	97	97	96	96	96	95	95	95	95	94	94	94	93	93	92	92
8,2	96	95	95	95	94	94	94	93	93	93	92	92	92	91	91	90
8,3	94	94	94	93	93	92	92	92	91	91	90	90	90	89	88	88
8,4	93	92	92	92	91	91	90	90	89	89	88	88	87	87	86	86
8,5	91	91	90	90	89	89	88	88	87	87	86	86	85	84	84	83
8,6	89	89	88	87	87	86	86	85	85	84	84	83	82	82	81	80

Carbone minéral total (*suite*)
Valeurs de *Ft*

$pH_{s\,(d)}$	°C = 0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
Cl = 19 ‰ *S* = 34 ‰																
7,3	1,06	1,06	1,05	1,05	1,05	1,04	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02
7,4	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01
7,5	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00
7,6	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	98
7,7	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	99	98	98	98	98	97
7,8	1,00	99	99	99	99	99	98	98	98	98	97	97	97	97	96	96
7,9	99	98	98	98	98	97	97	97	97	96	96	96	96	95	95	94
8,0	98	97	97	97	96	96	96	96	95	95	95	94	94	94	93	93
8,1	96	96	96	96	95	95	95	94	94	94	93	93	93	92	92	91
8,2	95	95	95	94	94	94	93	93	92	92	92	91	91	90	90	89
8,3	94	93	93	93	92	92	91	91	91	90	90	89	89	88	88	87
8,4	92	92	91	91	90	90	90	89	89	88	88	87	86	86	85	84
8,5	90	90	89	89	88	88	87	87	86	86	85	85	84	83	83	82
8,6	88	88	87	87	86	86	85	84	84	83	83	82	81	81	80	79
Cl = 21 ‰ *S* = 38 ‰																
7,3	1,06	1,05	1,05	1,04	1,04	1,04	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02
7,4	1,04	1,04	1,03	1,03	1,03	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00
7,5	1,03	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	99
7,6	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	99	98	98
7,7	1,00	1,00	1,00	1,00	99	99	99	99	99	98	98	98	98	97	97	97
7,8	99	99	99	99	98	98	98	98	97	97	97	97	96	96	96	95
7,9	98	98	98	97	97	97	97	97	96	96	96	95	95	95	94	94
8,0	97	97	97	96	96	96	96	95	95	95	94	94	94	93	93	92
8,1	96	96	95	95	95	95	94	94	93	93	93	92	92	91	91	90
8,2	95	94	94	94	93	93	93	92	92	91	91	90	90	89	89	88
8,3	93	93	92	92	92	91	91	90	90	89	89	88	88	87	86	86
8,4	91	91	91	90	90	89	89	88	88	87	87	86	85	85	84	83
8,5	89	89	89	88	88	87	86	86	85	85	84	84	83	82	81	80
8,6	87	87	86	86	85	85	84	83	83	82	82	81	80	79	78	77

Pression partielle en anhydride carbonique
Valeurs de F_p

$pH_{s(d)}$	°C = 0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
							Cl = 15 ‰		*S* = 27 ‰							
7,3	1,12	1,14	1,17	1,19	1,22	1,26	1,29	1,32	1,36	1,39	1,42	1,45	1,49	1,54	1,59	1,64
7,4	89	90	92	94	97	1,00	1,02	1,05	1,07	1,10	1,12	1,15	1,17	1,21	1,25	1,29
7,5	70	71	73	74	77	79	81	83	85	87	88	90	93	96	99	1,01
7,6	56	56	58	59	60	62	64	65	67	68	70	71	73	75	78	80
7,7	44	44	45	46	48	49	50	51	53	54	55	56	57	59	61	62
7,8	35	35	36	36	37	39	39	40	41	42	43	44	45	46	47	49
7,9	27	27	28	29	29	30	31	31	32	33	33	34	35	36	37	38
8,0	21	21	22	22	23	24	24	25	25	26	26	26	27	28	29	29
8,1	17	17	17	17	18	18	19	19	20	20	20	20	21	21	22	22
8,2	13	13	13	14	14	14	15	15	15	15	16	16	16	16	17	17
8,3	10	10	10	10	11	11	11	11	12	12	12	12	12	12	13	13
8,4	08	08	08	08	08	08	09	09	09	09	09	09	09	09	10	10
8,5	06	06	06	06	06	06	06	07	07	07	07	07	07	07	07	07
8,6	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05
							Cl = 17 ‰		*S* = 31 ‰							
7,3	1,09	1,10	1,13	1,16	1,19	1,23	1,26	1,29	1,31	1,34	1,37	1,41	1,44	1,49	1,54	1,57
7,4	86	87	89	91	94	97	1,00	1,02	1,04	1,06	1,08	1,11	1,14	1,18	1,22	1,24
7,5	68	69	71	72	74	77	79	80	82	84	85	87	90	93	96	97
7,6	54	54	56	57	59	60	62	63	64	66	67	69	70	73	75	76
7,7	42	43	44	45	46	48	49	50	51	52	53	54	55	57	59	60
7,8	33	34	35	35	36	37	38	39	40	40	41	42	43	44	46	46
7,9	26	26	27	28	28	29	30	31	31	32	32	33	34	35	36	36
8,0	21	21	21	22	22	23	23	24	24	25	25	25	26	27	27	28
8,1	16	16	17	17	17	18	18	18	19	19	19	20	20	21	21	21
8,2	12	13	13	13	13	14	14	14	14	15	15	15	15	16	16	16
8,3	10	10	10	10	10	10	11	11	11	11	11	11	12	12	12	12
8,4	07	07	08	08	08	08	08	08	08	08	09	09	09	09	09	09
8,5	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	07	07	07	07
8,6	04	04	04	04	04	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05

Pression partielle en anhydride carbonique (*suite*)
Valeurs de F_p

$pH_{s\,(d)}$	°C = 0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
						Cl = 19 ‰			*S* = 34 ‰							
7,3	1,05	1,07	1,10	1,12	1,14	1,18	1,21	1,24	1,28	1,30	1,33	1,36	1,40	1,43	1,48	1,52
7,4	83	84	87	89	90	93	96	98	1,01	1,02	1,05	1,07	1,10	1,13	1,17	1,20
7,5	66	67	69	70	71	74	76	77	80	81	82	84	87	89	92	94
7,6	52	53	54	55	56	58	60	61	63	63	65	66	68	70	72	74
7,7	41	41	43	44	44	46	47	48	49	50	51	52	53	54	56	58
7,8	32	33	33	34	35	36	37	37	39	39	40	41	42	42	44	45
7,9	25	26	26	27	27	28	29	29	30	30	31	32	32	33	34	35
8,0	20	20	20	21	21	22	22	23	23	23	24	24	25	25	26	27
8,1	15	16	16	16	16	17	17	18	18	18	18	19	19	19	20	20
8,2	12	12	12	13	13	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15
8,3	09	09	10	10	10	10	10	10	11	11	11	11	11	11	11	12
8,4	07	07	07	07	07	08	08	08	08	08	08	08	08	08	09	09
8,5	05	05	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06
8,6	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	05	05	05
						Cl = 21 ‰			*S* = 38 ‰							
7,3	1,02	1,04	1,07	1,08	1,11	1,15	1,18	1,20	1,24	1,26	1,29	1,32	1,36	1,39	1,44	1,47
7,4	81	82	84	85	88	91	94	95	98	99	1,01	1,04	1,07	1,09	1,13	1,15
7,5	64	65	67	67	69	72	74	75	77	78	80	82	84	86	89	90
7,6	50	51	53	53	55	57	58	59	60	61	63	64	66	67	70	71
7,7	40	40	41	42	43	44	46	46	47	48	49	50	51	53	54	55
7,8	31	32	32	33	34	35	36	36	37	37	38	39	40	41	42	43
7,9	24	25	25	26	26	27	28	28	29	29	30	30	31	32	33	33
8,0	19	19	20	20	20	21	22	22	22	23	23	23	24	24	25	25
8,1	15	15	15	15	16	16	17	17	17	17	18	18	18	19	19	19
8,2	11	12	12	12	12	13	13	13	13	13	14	14	14	14	14	14
8,3	09	09	09	09	09	10	10	10	10	10	10	10	10	11	11	11
8,4	07	07	07	07	07	07	07	07	08	08	08	08	08	08	08	08
8,5	05	05	05	05	05	05	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06
8,6	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04	04

Concentration en anhydride carbonique libre
Valeurs de δ (millimoles par litre)

		Degrés centigrades							
S ‰	***Cl*** ‰	**0**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**12**	**14**
		Solubilité							
27	15	67,4	62,3	57,8	53,8	50,4	47,2	44,2	41,6
28	16	66,7	61,7	57,3	53,3	49,9	46,8	43,8	41,3
30,5	17	66,0	61,1	56,7	52,8	49,5	46,4	43,4	41,0
32,5	18	65,3	60,5	56,2	52,4	49,0	46,0	43,1	40,6
34	19	64,6	59,9	55,7	51,9	48,6	45,6	42,8	40,3
36	20	64,0	59,3	55,1	51,4	48,2	45,2	42,4	40,0
38	21	63,3	58,7	54,6	50,9	47,7	44,8	42,1	39,6
		16	18	20	22	24	26	28	30
		Solubilité							
27	15	39,3	37,1	35,1	33,1	31,4	29,9	28,4	27,0
28	16	39,0	36,8	34,8	32,9	31,2	29,7	28,1	26,8
30,5	17	38,7	36,5	34,6	32,7	31,0	29,4	27,9	26,6
32,5	18	38,4	36,2	34,3	32,4	30,7	29,2	27,7	26,4
34	19	38,1	35,9	34,0	32,1	30,4	28,9	27,5	26,2
36	20	37,7	35,6	33,7	31,9	30,2	28,7	27,3	26,0
38	21	37,4	35,4	33,5	31,7	30,0	28,5	27,1	25,8

5 • ANIONS

5.1 Bore

Les méthodes de dosage décrites pour les eaux naturelles sont utilisables pour le dosage dans l'eau de mer (cf. § A-7.10). Mais la préparation de la solution fille étalon est modifiée. Pour cela effectuer la dilution à partir de la solution mère avec de l'eau de mer artificielle et remplacer le témoin constitué avec de l'eau permutée par de l'eau de mer artificielle.

5.2 Bromures

La méthode la plus adaptée est un dosage iodométrique principalement développé pour l'eau de mer par Thompson et Korpi (1942) à partir du protocole de Kolthoff et Yutzy (1937).

■ Principe

Les bromates obtenus par oxydation des bromures libèrent l'iode d'une solution d'iodure de potassium qui est dosé titrimétriquement par le thiosulfate de sodium.

□ Réactifs

– Solution d'acide sulfurique 6 *N*.

– Solution d'hydroxyde de sodium *N*.

– Solution de rouge de méthyle à 0,02 % :

rouge de méthyle	0,020 g
éthanol	60 mL

Après dissolution, compléter le volume à 100 mL avec de l'eau permutée.

– Solution d'hypochlorite de sodium *N*.

– Solution d'acétate de zinc à 10 %.

– Solution d'acide acétique 3 *N*.

acide acétique		180 g
eau permutée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution de formiate de sodium à 30 %.

– Solution de molybdate d'ammonium 0,25 *N*.

– Iodure de potassium.

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L.

– Solution de thiosulfate de sodium 0,02 *N*.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau de mer dans une fiole conique de 750 mL, ajouter 2 mL d'acide sulfurique 6 *N*, porter à l'ébullition quelques minutes, laisser refroidir puis neutraliser avec la solution d'hydroxyde de sodium en présence de rouge de méthyle. Ajouter 10 mL de solution d'hypochlorite de sodium *N* et 20 mL de solution d'acétate de zinc. Dissoudre le précipité d'hydroxyde de zinc par l'acide acétique 3 *N*. Porter à l'ébullition 10 minutes, retirer du feu et ajouter 5 mL de solution de formiate de sodium à 30 %. Après refroidissement, ajouter quelques gouttes de molybdate d'ammonium 0,25 *N*, 1 g d'iodure de potassium et 25 mL d'acide sulfurique 6 *N*. Titrer le plus rapidement par le thiosulfate de sodium 0,02 *N* en présence de solution d'amidon. Soit *V* le volume versé.

Expression des résultats

1 mL de solution de thiosulfate de sodium 0,02 *N* correspondant à 0,2664 mg de brome, $V \times 2{,}664$ donne la teneur de brome exprimée en milligrammes par litre d'eau de mer.

> **Remarque**
>
> Un atome de brome oxydé en bromate libère 6 atomes d'iode. La méthode peut donc être contrôlée en effectuant un essai à blanc avec tous les réactifs.

Bibliographie

I. M. Kolthoff, H. Yutzy (1937). Ind. Engng. Chem. Analyt. Edit. 9 : 75-76.

T. G. Thompson, E. Korpi (1942). Journal of Marine Research 5: 28-36.

Norme AFNOR T 20-408. Dosage du brome dans le chlorure de sodium à usage industriel, novembre 1971.

5.3 Cyanures

Se reporter au dosage des cyanures dans les eaux résiduaires (§ D-3.5).

5.4 Fluorures

Se reporter au dosage du fluor dans les eaux naturelles (§ A-7.27). Toutefois certains auteurs utilisent la méthode spectrophotométrique sans distillation préalable.

Bibliographie

R. Greenhalgh, J.-P. Riley (1961). The determination of fluorides in natural waters, with particular reference to sea water. *Anal. chem. acta.*, **25**, p. 179-188.

5.5 Nitrites

Les ions nitrites, composés intermédiaires du cycle de l'azote situés entre l'azote ammoniacal et les ions nitrates ont des concentrations pouvant atteindre quelques micromoles par litre.

■ Principe

La concentration en nitrite est mesurée selon une méthode colorimétrique basée sur la réaction de Griess optimisée en 1952 par Bendschneider et Ronbinson.

La diazotation de la sulfanilamide en milieu acide et sa réaction avec la N-(1-naphtyl)-éthylènediamine donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrophotométrique.

La méthode est similaire de celle décrite pour les eaux naturelles (§ A-7.39.1).

□ Réactifs

– Acide chlorhydrique dilué à 10 % (en volume).

– Solution de sulfanilamide :

sulfanilamide	1 g
acide chlorhydrique à 10 %	100 mL

– Solution de dichlorhydrate N (1-naphtyl)-éthylènediamine à 0,1 %.

– Eau de mer artificielle :

chlorure de sodium		25,9 g
chlorure de magnésium ($MgCl_2$, $6\,H_2O$)		13,6 g
sulfate de sodium (Na_2SO_4, $10\,H_2O$)		9,4 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution mère étalon d'azote nitreux à 100 mg/L :

nitrite de sodium		0,4928 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dessécher le nitrite de sodium 1 heure à l'étuve à 105 °C.

– Solution fille étalon d'azote nitreux à 1 mg/L :

Diluer au 1/100 la solution précédente avec de l'eau déionisée. À préparer chaque jour.

– Solution fille étalon d'azote nitreux à 0,1 mg/L :

Diluer au 1/10 la solution à 1 mg/L avec de l'eau de mer artificielle (*voir* E-4.1.1). À préparer chaque jour.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire dans une série de fioles jaugées de 50 mL :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV
Solution fille étalon à 0,1 mg/L (mL)	0	1	2	5	10
Eau de mer artificielle (mL)	50	49	48	45	40
Correspondance en microgrammes par litre d'azote nitreux	0	2	4	10	20
Solution de sulfanilamide (mL)	1	1	1	1	1
		agiter vigoureusement et attendre 5 minutes			
Solution de *N*-(1-naphtyl)-éthylène-diamine (mL)	1	1	1	1	1

Laisser au repos 10 minutes. Effectuer les lectures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 543 nm en cuves de 5 ou mieux de 10 cm.

Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 50 mL d'eau de mer à analyser dans une fiole jaugée puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL, la courbe donne directement la teneur en azote nitreux, exprimée en microgrammes par litre d'eau de mer.

Remarques

– La coloration est stable 2 heures.

– Si des filtres, de quelque type que ce soit, ont été utilisés, en particulier pour la clarification de l'échantillon, vérifier au préalable que le matériel utilisé ne contient pas de nitrites ou de nitrates.

Méthode automatique en flux continu segmenté

Il est possible d'analyser le nitrite des eaux marines par système continu à flux segmenté (SFA, Segmented Flow Analysis). La méthode est basée sur les réactions chimiques de la méthode manuelle cependant, les concentrations des divers réactifs ainsi que les conditions réactionnelles doivent être optimisées en fonction de la configuration technique du système analytique utilisé (Aminot et Kérouel, 2007).

Se référer à la méthode décrite pour les eaux naturelles (§ A-7.39.2).

Bibliographie

BENDSCHNEIDER, ROBINSON (1952). *J. Mar. Res.*, **11**, p. 87.

K. BENDSCHNEIDER, R. J. RONBINSON (1952). A new spectrophotométric determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.*, 11 : 87-96.

A. AMINOT, R. KÉROUEL (2007). Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines : méthodes en flux continu. Ed Ifremer, 188 p. Chap V Nitrite : dosage colorimétrique par SFA.

Pour en savoir plus

A. AMINOT, R. KÉROUEL (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. XV, Mesure de la concentration en nitrite.

5.6 Nitrates

L'ion nitrate est un composé important entrant dans le cycle de l'azote comme support principal de la croissance du phytoplancton.

Les méthodes directes de dosage des nitrates par spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'eau de mer se heurtent à deux difficultés : un manque de sensibilité du fait de la faible teneur en nitrates et des interactions sévères dues à la matrice chlorure de sodium. De ce fait, il est préférable d'utiliser des méthodes faisant appel à une réduction des nitrates en ammoniaque, en nitrites ou en chlorure de nitrosyle.

5.6.1 Méthode par réduction au cadmium

La méthode retenue dans la grande majorité des études sur le milieu marin est fondée sur le dosage des ions NO_2^- obtenus par réduction quantitative des ions NO_3^- après passage de l'échantillon sur une colonne de cadmium traité au cuivre (Wood et al. 1967). En raison de la présence de nitrite dans l'échantillon, la méthode mesure en fait la somme des concentrations en ions NO_2^- déjà présents et des ions NO_2^- provenant de la réduction des ions NO_3^- de l'échantillon. La concentration en nitrate est donc obtenue en soustrayant la concentration en nitrite déterminée séparément sans réduction (cf. paragraphe précédent). Les nitrates réduits en nitrites sont dosés par spectrophotomètrie à 543 nm.

Se référer à la méthode décrite pour les eaux naturelles (§ A-7.38.2).

■ Principe

Les nitrates sont réduits, à travers une colonne de cadmium, en nitrites qui sont dosés par spectrophotométrie.

□ Conservation des échantillons

Effectuer l'analyse dans les 24 heures, sinon conserver l'échantillon à 4 °C. Dans le cas d'un délai supérieur, l'acidifier à l'acide sulfurique à raison de 2 mL/L.

□ Matériel spécial

Colonne de verre d'une capacité d'environ 100 mL, constituée d'un tube de 15 cm de long et de 3 cm de diamètre intérieur, prolongée par un autre tube de 25 cm de long et de 3,5 mm de diamètre intérieur, légèrement effilé à son extrémité ; un tube en téflon de 10 cm de long, fermé par une pince de Mohr, prolonge cet embout.

☐ **Réactifs**

Réactifs utilisés pour le dosage des nitrites (C.5.5).

– Solution de sulfate de cuivre à 2 %.

– Solution de chlorure d'ammonium-EDTA :

chlorure d'ammonium		13 g
éthylènediamine tétracétate de sodium		1,7 g
eau permutée	*q.s.p.*	900 mL

Après dissolution, ajuster le *p*H à 8,5 par l'ammoniaque puis compléter le volume à 1 litre.

– Cadmium de granulométrie : 2 mm.

– Cadmium-cuivre.

Nettoyer le cadmium à l'acide chlorhydrique 6 *N* puis le rincer soigneusement à l'eau. Agiter 25 g de cadmium ainsi lavé avec 100 mL de solution de sulfate de cuivre jusqu'à décoloration de celle-ci. Recommencer l'opération avec de nouvelles fractions de solution de sulfate de cuivre jusqu'à obtention sur le cadmium d'un précipité colloïdal brun. Rincer une dizaine de fois le cadmium ainsi traité à l'eau permutée.

– Solution étalon d'azote nitrique à 0,1 g/L :

nitrate de potassium		0,722 g
eau permutée	*q.s.p.*	1 000 mL

■ Préparation de la colonne

Insérer un morceau de laine de verre au fond de la colonne et la remplir d'eau permutée. Verser le cadmium traité de façon à avoir une colonne d'environ 19 cm. Maintenir constant le niveau d'eau permutée pour éviter le contact du cadmium avec l'air. Laver la colonne avec 200 mL de chlorure d'ammonium EDTA. Activer la colonne par une solution de nitrate composée de 25 mL de nitrate à 1 mg/L d'azote nitrique et de 75 mL de chlorure d'ammonium EDTA. Régler le débit par la pince de Mohr de façon à avoir un écoulement d'environ 10 mL/min.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution étalon d'azote nitrique, préparer des dilutions de 0 à 1 mg/L. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire.

■ Mode opératoire

Faire passer 100 mL d'un mélange composé de 25 mL d'échantillon et de 75 mL de solution de chlorure d'ammonium EDTA à travers la colonne. Écarter les 30 premiers millilitres et réaliser la détermination des nitrites sur 50 mL de la fraction restante par la méthode de dosage des nitrites (C.5.5).

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 50 mL après passage de l'échantillon sur la colonne, la valeur lue sur la courbe multipliée par 4 donne la teneur en azote nitreux provenant des nitrates et des nitrites exprimée en microgrammes par litre. Tenir compte du rendement de la colonne.

La teneur en azote nitrique de l'échantillon est obtenue par la différence entre l'azote ainsi déterminé et l'azote nitreux.

Remarques

– Lorsque le rendement de la colonne devient inférieur à 0,8, il est nécessaire de renouveler ou de régénérer la colonne.

– Afin d'éviter le colmatage de la colonne, il est nécessaire de travailler sur les échantillons préfiltrés à 0,45 µm. Vérifier que les filtres utilisés ne contiennent pas de nitrates ou de nitrites.

– En présence de chlorure mercurique utilisé parfois pour la conservation des échantillons ajuster le *p*H de la solution de chlorure d'ammonium à 6,3 au lieu de 8,5.

5.6.2 Méthode par flux continu

La méthode décrite pour le dosage des nitrates dans les eaux naturelles (§ A-7.38.3) est applicable à l'eau de mer.

L'optimisation du dosage automatique à flux continu segmenté pour des eaux marines est décrite en détails par Aminot et Kérouel 2007.

Bibliographie

Morris, Riley (1963). *Anal. Chim. Act.* **29**, p. 272.

Grasshoff (1964). *Kiel Meiresforsch*, **20**, p. 5.

Wood et coll. (1967) *J. Mar. Biol. Assoc.* U.K., **47**, p. 23.

E. D. Wood, F. A. J. Armstrong, F. A. Richards (1967). Determination of nitrate in sea water by cadmium copper reductiion to nitrite. J. Mar. Biol. Ass. 47 : 23-31.

M. E. Gales (avril 1974). *Determination of nitrate using copper cadmium. Inorganic analyses section physical and chemical methods branch.* MDQARL. United States Environmental Protection Agency. National Environmental Research Center.

U.S. Environmental Protection Agency (avril 1977). Newsletter. Analytical Quality Control. **33**.

A. Aminot, R. Kérouel (2007). Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines : méthodes en flux continiu. Ed Ifremer, 188p. Chap VI Nitrate : dosage colorimétrique par SFA.

Pour en savoir plus

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336 p. Chap. XVI, Mesure de la concentration en nitrate.

5.7 Composés phosphorés

Le phosphore présent dans l'eau de mer à l'état soluble ou particulaire existe sous plusieurs formes : phosphore inorganique, composé essentiellement d'orthophosphates et de polyphosphates (tri- et pyro-) et phosphore organique présent dans les nucléoprotéines, les phosphoprotéines, les combinaisons sucres phosphates et leurs produits d'oxydation. Analytiquement c'est l'ion orthophosphorique qui est déterminé ; le phosphore organique est transformé en orthophosphate soit par photo-oxydation dans l'ultraviolet soit par oxydation chimique. Les polyphosphates donnent des orthophosphates par hydrolyse acide (cf. § A-7.40).

Prélèvements

Effectuer les prélèvements dans des flacons en polyéthylène, rincés deux fois avec l'eau à prélever. Analyser les échantillons aussi rapidement que possible après leur prélèvement.

5.7.1 Orthophosphates

Se reporter au dosage des phosphates dans les eaux naturelles (§ A-7.40).

Pour les eaux de mer, la méthode de Murphy et Riley (1962) est encore une des plus rapides et des plus simples. El est fondée sur la formation d'un complexe phosphomolybdique en présence d'antimoine puis de sa réduction par de l'acide ascorbique en un composé d'une intense couleur bleue dont le maximum d'absorption se situ à 885 nm.

L'optimisation du dosage automatique à flux continu segmenté pour des eaux marines est décrite en détails par Aminot et Kérouel (2004).

5.7.2 Phosphore total

■ Minéralisation

Introduire, dans une fiole conique de 150 mL, 50 mL d'eau de mer à analyser puis 3 mL d'acide perchlorique. Placer sur une plaque chauffante et évaporer jusqu'à apparition des vapeurs blanches caractéristiques de l'acide perchlorique. Placer un verre de montre sur la fiole conique et poursuivre le chauffage 5 à 10 minutes à température plus basse de façon à éviter la production des fumées blanches. Retirer la fiole conique de la plaque, ajouter 1 mL de solution d'acide ascorbique à 5 % et 3 mL d'acide chlorhydrique ($d = 1{,}19$). Remettre sur la plaque chauffante et poursuivre le chauffage jusqu'à réapparition des fumées blanches. Laisser refroidir puis ajouter environ 25 mL d'eau et amener le *p*H à 7 avec de l'hydroxyde de sodium *N*. Ajuster le volume à 50 mL. Effectuer la détermination des orthophosphates sur la solution ainsi obtenue.

5.7.3 Phosphore organique

■ Principe

Les radiations ultraviolettes entre 200 et 250 nm provoquent une oxydation rapide de la matière organique présente dans l'eau de mer qui se traduit, dans le cas des composés organophosphorés, par une libération des ions orthophosphoriques.

□ **Matériel spécial**

- Lampe à vapeur de mercure de moyenne puissance 100 à 1 200 W.
- Jaquette en quartz permettant l'irradiation en ultraviolet.
- Dispositif pour une circulation d'argon à l'intérieur de la jaquette.
- Bain réfrigérant à 20 °C.

■ Étalonnage de la lampe

La durée de l'irradiation dépend de la puissance de la lampe, par exemple 1 heure pour 1 200 W et 4 heures pour 380 W ; toutefois elle doit être précisée pour chaque type de lampe. Effectuer l'étalonnage soit avec de l'acide ribonucléique (ARN), de la triphénylphosphine ou de l'acide aminoéthanophosphorique. Contrôler la photo-oxydation en déterminant la teneur en orthophosphate de la solution de référence.

Mode opératoire

Introduire 100 mL d'eau à analyser dans un tube, ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée à 30 %. Plonger le système lampe-jaquette dans l'échantillon et irradier pendant le temps déterminé expérimentalement en refroidissant l'échantillon. Effectuer ensuite le dosage des orthophosphates sur la solution ainsi obtenue.

Expression des résultats

Le phosphore organique est obtenu en retranchant, de la valeur trouvée, la quantité de phosphore déterminée sur un échantillon non irradié.

5.7.4 Polyphosphates

Principe

Les polyphospates sont transformés par hydrolyse en milieu acide en orthophosphates et dosés sous cette forme. La teneur en polyphosphates est obtenue par la différence entre l'orthophosphate dosé avant et après hydrolyse.

Réactifs

– Se reporter à l'une des méthodes de dosage des orthophosphates (§ A-7.40).

– Acide chlorhydrique (d = 1,19).

Mode opératoire

Prélever 50 mL de l'échantillon d'eau de mer irradiée à l'ultraviolet, ajouter 0,5 mL d'acide chlorhydrique, porter à l'ébullition 1 à 2 heures. Compléter le volume à 50 mL après refroidissement. Effectuer le dosage des orthophosphates selon l'une des méthodes décrites pour les eaux naturelles.

Expression des résultats

Retrancher, à la valeur trouvée, la quantité de phosphore déterminée sur un échantillon irradié mais non soumis à l'hydrolyse acide. La teneur en polyphosphates s'exprime en milligrammes de phosphore par litre.

Bibliographie

Hansen, Robinson (1953). *J. Mar. Res.*, **12**, p. 31.

J. Murphy, J. P. Riley (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytical Chemica Acta 27 : 31-36.

Hassenteufel et coll. (1963). *Limnol. Oceanogr.*, **8**, p. 152.

Stephens (1963). *Limnol. Oceanogr.*, **8**, p. 361.

Menzel, Corwin (1965). *Limnol Oceanogr.*, **10**, p. 280.

Armstrong, Williams, Strickland (1966). *Nature*, **211**, p. 481.

Méthodes en flux continu. Ed Ifremer, 188 p. Chap IX Phosphate : dosage colorimétrique par SFA.

Pour en savoir plus

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336 p. Chap. XVIII, Mesure de la concentration en phosphate.

5.8 Silicates

Le silicium dissous dans l'eau de mer se trouve essentiellement sous forme d'acide orthosilicique H_4SiO_4 . Il est nécessaire à la nutrition des diatomées. Sa présence dans l'eau de mer provient de la dissolution de sels minéraux, notamment les aluminosilicates mais aussi de la dégradation du silicium organique particulaire. Au *p*H de l'eau de mer, les orthosilicates ont tendance à polymériser et seules les chaînes linéaires courtes sont dosées.

5.8.1 Méthode par spectrophotométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

La méthode utilisée a recours à la formation, à *p*H 1-2, d'un complexe entre le molybdate d'ammonium et les formes monomère ou dimère de l'acide orthosilicique. Ce dernier est réduit par le métol en un complexe bleu susceptible d'un dosage spectrophotométrique.

□ Conservation de l'échantillon

La conservation du silicate demande un intérêt tout particulier. En premier lieu, la présence de micro-algues de la classe des diatomées, caractérisées notamment par un squelette de silice (SiO_2), peut s'avérer être une source de contamination lorsque leur squelette siliceux se dissout sous l'effet de la dégradation bactérienne. Il est alors conseillé d'effectuer une pré- filtration à 10 μm qui illuminera la plus grande partie des diatomées. Il est possible d'utiliser un seuil de filtration plus bas à la condition de ne pas utiliser de filtres en fibre de verre. D'autre part, la congélation si elle satisfaisante vis de l'activité des micro-organismes, favorise la polymérisation du silicate qui s'accentue avec la diminution de la salinité (Burton *et al.*, 1970 ; MacDonald et al., 1986). Cette méthode de conservation est donc à proscrire, les échantillons seront gardés à 4 °C dans un flaconnage de plastique (HDPE), pendant quelques jours pour des échantillons pré-filtrés à 10 μm et pour de longues durée si l'échantillon a été pré-filtré à 0,5 μm. Ces problèmes ont été détaillés entre autres par Aminot et Kérouel, 2004.

□ Réactifs

– Pour la préparation des réactifs, utiliser de l'eau ultra-pure vérifiée exempte de silice.

– Eau de mer artificielle (*voir* E.4.1.1).

– Réactif molybdique :

heptamolybdate d'ammonium $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$, 4 H_2O		8 g
acide chlorhydrique (*d* = 1,19)		24 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre l'heptamolybdate d'ammonium dans environ 600 mL d'eau, ajouter l'acide chlorhydrique, mélanger, ajuster le volume à un litre avec de l'eau déionisée. Conserver ce réactif dans un flacon en polyéthylène.

– Solution de métol-sulfite :

sulfite de sodium anhydre	6 g
métol (sulfate de paraméthylamino-4-phénol)	10 g
eau déionisée	500 mL

Dissoudre le sulfite de sodium dans l'eau, ajouter le métol. Filtrer la solution et la conserver dans un flacon en polyéthylène à l'obscurité et au réfrigérateur.

– Solution complexante :

acide oxalique		50 g
eau déionisée		500 mL

Conserver la solution dans un flacon en polyéthylène.

– Solution d'acide sulfurique 18 *N* :

acide sulfurique (*d* = 1,84)		500 mL
eau déionisée		500 mL

– Solution réductrice :

solution métol-sulfite		100 mL
solution complexante		60 mL
acide sulfurique 18 *N*		60 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	300 mL

Mélanger la solution métol-sulfite et la solution complexante, ajouter l'acide sulfurique lentement. Ajuster le volume à 300 mL avec de l'eau ultra-pure. Préparer cette solution extemporanément.

– Solution mère étalon à 0,250 g/L de dioxyde de silicium :

fluosilicate de sodium (Na_2SiF_6)		782,5 mg
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Sécher le fluosilicate à l'étuve à 105 °C, écraser les agglomérats de façon à avoir une poudre fine et homogène. En peser 782,5 mg dans un bécher en téflon, les dissoudre dans 100 mL d'eau ultra-pure environ. Ajuster le volume à un litre. Transvaser rapidement la solution dans un flacon en polyéthylène.

– Solution fille étalon à 2,5 mg/L de dioxyde de silicium (SiO_2).

Diluer la solution précédente au 1/100 à partir d'une eau de mer pauvre en silicates ou, à défaut, d'eau de mer artificielle.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 50 mL en polyéthylène, introduire successivement :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon à 2,5 mg/L SiO_2 (mL)	0	1	2	5	10	20
Eau de mer artificielle (mL)	25	24	23	20	15	5
Réactif molybdique (mL)	10	10	10	10	10	10
	Mélanger et attendre 10 min					
Solution réductrice (mL)	15	15	15	15	15	15
	Agiter immédiatement					
Correspondance en mg/L de SiO_2	0	0,1	0,2	0,5	1	2

Attendre 2 heures puis effectuer les lectures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 810 nm. Tracer la courbe d'étalonnage.

■ Mode opératoire

Introduire 25 mL d'eau à analyser dans une fiole jaugée en polyéthylène de 50 mL. Poursuivre comme pour la courbe d'étalonnage.

Correction de la turbidité

À un prélèvement de l'eau à analyser, ajouter la solution réductrice et remplacer le réactif molybdique par de l'eau de mer artificielle.

Déterminer l'unité d'absorbance de cette solution. La différence entre cette valeur et celle du zéro de la gamme correspond à la turbidité de l'eau de mer à analyser. Cette valeur est à retrancher de la densité optique lue pour l'échantillon selon le procédé décrit dans le mode opératoire pour tenir compte de l'interférence due à la turbidité.

■ Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 25 mL, la courbe donne directement la teneur en silice exprimée en mg/L de dioxyde de silicium.

Bibliographie

J. B. Mullin, J. P. Riley (1955). The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to seawater. *Anal. Chem. Acta*, **12**, p. 162-170.

J. D. Burton, T. M. Leatherland, P. S. Liss (1970). The reactivity of dissolved silicon in some natural waters. Limnol. Oceanogr., 15, (3), p. 472-476.

K. A. Fanning, M. E. Pilson (1973). On the spectrophotometric determination of dissolved silica in natural waters. *Anal. Chem.*, **45**, p. 136-140.

Parsche (1973). *Mar. Biol.*, **19**, p. 262.

R. W. MacDonald, F. A. McLaughlin, C. S. Wong (1986). The storage of reactive silicate samples by freezing. Limnol. Oceanogr. 31, (5), p. 1139-1142.

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. XVI, Mesure de la concentration en nitrate.

5.8.2 Méthode par flux continu

■ Principe

Se reporter à la méthode par spectrophotométrie d'absorption moléculaire décrite ci-dessus (§ E-5.8.1).

□ Réactifs

Préparer les réactifs à partir de produits pour analyse.

– Réactif molybdique :

heptamolybdate d'ammonium $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$, 4 H_2O		10 g
solution d'acide sulfurique 5 *N*		40 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre l'heptamolybdate d'ammonium dans 500 mL d'eau déionisée, ajouter l'acide sulfurique et compléter à 1 litre avec de l'eau déionisée. Conserver au réfrigérateur en flacon de polyéthylène, cette solution est stable plusieurs mois. La présence d'un fin précipité blanc est éliminée par filtration sur membrane 0,45 μm.

– Solution complexante :

solution d'acide sulfurique à 50 %	100 mL
acide oxalique ($C_2H_2O_4$, 2 H_2O)	7 g
eau ultra-pure	1 000 mL
Brij 35 (polyoxyéthylène (23) lauryl éther)	1 mL

Conservée au réfrigérateur en flacon de polyéthylène, cette solution est stable plusieurs mois.

– Solution de métol sulfite :

métol (sulfate de paraméthylamino-4-phénol)		10 g
sulfite de sodium (Na_2SO_3)		12 g
eau ultra-pure	*q.s.p.*	1 000 mL

À conserver au réfrigérateur en flacon de polyéthylène et à renouveler tous les mois.

– Solutions étalons de dioxyde de silicium.

Se reporter à la méthode par spectrophotométrie d'absorption moléculaire.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Préparer à partir de la solution fille étalon et d'eau de mer artificielle une série de dilutions comprises entre 0 et 1,25 mg/L de dioxyde de silicium. Traiter ces solutions selon le procédé décrit dans le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

■ Expression des résultats

Dans les mêmes conditions d'utilisation, la courbe donne directement la teneur en silice exprimée en mg/L de dioxyde de silicium.

> **Remarque**
>
> Pour la correction, due à la turbidité, se reporter à la méthode spectrophotométrique. Effectuer la mesure en remplaçant le réactif molybdique par de l'eau ultra-pure.

Bibliographie

P. Tréguer, P. Le Corre (1975). *Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer*. Université de Bretagne Occidentale, Brest.

A. Aminot, R. Kérouel (2007). Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines : méthodes en flux continu. Ed Ifremer, 188 p. Chap X Silicate : dosage colorimétrique par SFA.

5.9 Sulfures

Méthode par spectrophotométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

Les sulfures forment en présence de N,N-diméthylparaphénylènediamine et de chlorure ferrique une coloration susceptible d'un dosage spectrophotométrique.

□ Prélèvement

Prélever l'échantillon dans des flacons à col rodé de 100 mL et les remplir à ras bord ; les conserver à l'obscurité et au froid. Effectuer le dosage dans l'heure qui suit le prélèvement.

☐ **Réactifs**

– Réactif à la N,N-diméthylparaphénylènediamine. Suivant la teneur en sulfures, le réactif est préparé à partir de solutions plus ou moins concentrées.

	Sulfate de N,N-diméthyl-paraphénylène-diamine (g)	Chlorure ferrique 6 H_2O (g)	Acide chlorhydrique dilué au demi (mL)
Réactif A	4	6	100
Réactif B	1,6	2,4	100
Réactif C	0,4	0,60	100
Réactif D	0,1	0,15	100

– Eau de mer artificielle (voir § E.4.1.1) ayant préalablement subi un barbotage d'azote.

– Solution mère étalon de soufre à 1 g/L :

sulfure de sodium (Na_2S, 9 H_2O)		7,46 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

– Solution fille étalon de soufre à 0,010 g/L :

Diluer au 1/100 la solution précédente avec de l'eau de mer artificielle.

Effectuer la dissolution et la dilution sous atmosphère d'azote.

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution fille étalon préparer des dilutions correspondant à la teneur supposée en sulfures (S^{2-}) de l'échantillon soit :

250 à 1 000 µg/L,
40 à 250 µg/L,
3 à 40 µg/L,
1 à 3 µg/L.

Introduire 50 mL de dilution dans un flacon bouché émeri, ajouter très rapidement 4 mL de réactif :

A pour 250 à 1 000 µg/L,
B pour 40 à 250 µg/L,
C pour 3 à 40 µg/L,
D pour 1 à 3 µg/L.

et reboucher.

Mélanger, attendre 20 minutes puis effectuer les lectures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 670 nm en cuve de 1 cm pour des teneurs de 3 à 1 000 µg/L et de 10 cm pour 1 à 3 µg/L.

Mode opératoire

Introduire 50 mL d'eau de mer, ajouter 4 mL d'un des réactifs A, B, C ou D, puis poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

la courbe donne la teneur en sulfures exprimée en microgrammes de soufre par litre d'eau de mer.

Remarques

– Au cours de la manipulation de l'échantillon il est recommandé d'éviter le contact avec l'air pour diminuer les risques de volatilisation de l'hydrogène sulfuré.

– L'effet de la teneur élevée en sels est négligeable.

– Pour le dosage des sulfures totaux dans des eaux troubles ou colorées, il est préférable d'appliquer la méthode utilisée pour les eaux résiduaires (B-5.21).

– La solution de soufre peut être titrée par iodométrie.

Bibliographie

J. D. Cline (1969). Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.,* **14**, p. 454.

6 • CATIONS

D'une façon générale, les méthodes décrites pour l'analyse des eaux naturelles (§ A-7) sont utilisables pour l'analyse de l'eau de mer. Toutefois, compte tenu des niveaux de concentration en sels élevés, il conviendra de procéder aux dilutions compatibles avec la méthode utilisée.

7 • ÉLÉMENTS À L'ÉTAT DE TRACES

Les éléments à l'état de traces présents dans l'eau de mer peuvent exister à l'état particulaire ou à l'état soluble. Dans le premier cas ces éléments sont associés à des composés minéraux ou organiques dont la séparation est généralement effectuée par filtration sur membrane de 0,45 μm. Le dosage de ces éléments doit être précédé d'une mise en solution ou d'une minéralisation.

Bien que présents à très faibles teneurs, certains éléments peuvent être dosés directement avec la technique appropriée.

Cependant dans la majorité des cas, il est nécessaire, avant de procéder à la détermination de ces éléments par les méthodes habituelles, d'effectuer une concentration par l'une des techniques suivantes : cocristallisation, coprécipitation ou extraction liquide-liquide.

■ Prélèvement

Le prélèvement et la conservation de l'échantillon sont délicats à cause des faibles teneurs en éléments à l'état de traces et des risques d'adsorption ou de désorption par le récipient. Le lavage de ce dernier présente une grande importance, il doit être au préalable lavé de la façon suivante :

– lavage avec un détergent, puis rinçage à l'eau déionisée ;

– lavage à l'acide chromique, puis rinçage à l'eau déionisée ;

– lavage à l'acide nitrique dilué au demi, rinçage à l'eau ultra-pure.

Dans le cas de détermination des éléments à l'état de traces solubles filtrer le plus rapidement possible l'échantillon puis acidifier la phase liquide par de l'acide nitrique à raison de 5 mL/L d'échantillon. L'échantillon prélevé pour le dosage total des éléments à l'état de traces est acidifié de la même manière.

7.1 Concentration par cocristallisation

■ Principe

Lorsqu'un métal et un réactif organique forment dans l'eau un complexe plus insoluble que le réactif lui-même, il y a cocristallisation du métal et du réactif. Ainsi la thionalide permet la séparation de nombreux éléments (se reporter au tableau page suivante).

Cocristallisation des éléments à l'état de traces avec la thionalide
(Pourcentage de cocristallisation en fonction du *p*H)

Élément	HCl *N*	*p*H		
		3,5	7	10
Sb	–	78,8	89,7	81,7
Sn	–	87,5	84,4	95,8
Tl	–	3,6	6,0	100,0
Zn	–	6,9	100,0	98,3
Hg	–	98,5	97,5	99,1
Ag	24,8	100,0	100,0	85,8
Au	98,9	97,4	98,3	73,9
Co	–	1,6	85,6	96,3
Fe	–	8,6	75,3	57,9
Ru	–	32,5	56,5	100,0
Mn	–	8,6	15,4	96,0
Cr	–	31,3	31,1	100,0
Ta	94,4	98,1	95,5	91,5

☐ **Réactifs**

– Solution de thionalide à 1 % :

thionalide		1 g
acétone	*q.s.p.*	100 mL

– Acide sulfurique.

– Acide nitrique.

– Acide perchlorique.

■ Mode opératoire

Introduire dans un bécher 1 litre d'eau de mer, ajuster le *p*H à la valeur convenant à l'élément à doser. Chauffer à 80 °C puis ajouter 20 mL de solution de thionalide. Laisser refroidir à la température ambiante puis placer le bécher une nuit au réfrigérateur. Recueillir le précipité par filtration, le laver à l'eau permutée, le minéraliser à 550 °C, puis le solubiliser par minéralisation sulfo-nitrique ou nitro-perchlorique. Pour cela, placer le précipité dans un matras de 25 mL, ajouter 2 mL d'acide sulfurique ou perchlorique. Chauffer puis ajouter l'acide nitrique goutte à goutte jusqu'à dissolution et obtention d'un liquide clair, laisser refroidir puis ajuster le volume à 20 mL. Cette technique permet de concentrer 50 à 100 fois les éléments à l'état de traces et également d'éliminer la matrice chlorure de sodium, sulfate de magnésium, chlorure de calcium.

7.2 Concentration par extraction liquide-liquide

■ Principe

Certains réactifs organiques forment avec les métaux des complexes extractibles par des solvants organiques. L'association ammonium pyrrolidium dithiocarbamate-méthylisobutylcétone (APDC-MIBC) permet à *p*H 3,5 l'extraction quantitative de l'argent, cadmium, cobalt, chrome hexavalent, cuivre, fer, nickel, plomb, zinc dont la détermination est effectuée directement par spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme sur la solution ainsi obtenue.

□ Matériel spécial

– Agitateur automatique.

– *p*H-mètre.

– Centrifugeuse.

Se reporter à la méthode de dosage décrite pour chacun de ces éléments dans les eaux naturelles.

□ Réactifs

– Acide nitrique d'une grande pureté.

– Solution de chlorure d'ammonium à *p*H 9 :

chlorure d'ammonium		25 g
eau déionisée	*q.s.p.*	100 mL

Ajuster le *p*H à 9 avec une solution d'hydroxyde de sodium à 25 % (très pur).

– Solution d'ammonium pyrrolidium dithiocarbamate (APDC) à 2 %.

– Méthylisobutylcétone très pure.

– Solution étalon mère de l'élément à doser à 1 g/L :

élément à doser		1 g
acide nitrique *N*	*q.s.p.*	1 000 mL

Les solutions sont préparées par dissolution du métal dans l'acide nitrique à l'exception de celle de chrome qui est obtenue à partir de dichromate de potassium.

– Solution fille étalon à 10 mg/L.

Diluer extemporanément au 1/100 la solution précédente.

– Solution étalon à 0,1 mg/L d'argent, cadmium, cuivre et zinc et à 0,4 mg/L de cobalt, chrome hexavalent, fer, nickel, manganèse, plomb à préparer extemporanément à partir des solutions filles étalons à 10 mg/L.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées de 500 mL préparer les dilutions suivantes :

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon à 0,1 mg/L de Ag, Cd, Cu, Zn et 0,4 mg/L de Co, Cr^{6+}, Fe, Ni, Mn, Pb (mL)	0	5	25	50	100	200
Eau déionisée (mL)	500	495	475	450	400	300
Acide nitrique (mL)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Concentration en µg/L						
Ag, Cd, Cu, Zn	0	1	5	10	20	40
Ni, Pb, Co, Cr^{6+}, Fe, Mn	0	4	20	40	80	160

Poursuivre comme décrit pour le mode opératoire. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire dans un bécher 400 mL d'eau de mer acidifiée au moment du prélèvement et ajuster le *p*H du prélèvement à 3,5 ± 0,1 à l'aide de la solution de chlorure d'ammonium. Verser le contenu dans une ampoule à décantation, rincer le bécher avec 25 mL d'eau déionisée, joindre les eaux de lavage. Ajouter 50 mL de solution APDC. Agiter 5 minutes sur un agitateur à va-et-vient (fréquence moyenne d'agitation : 60). Ajouter 50 mL de méthylisobutylcétone. Agiter 10 minutes de la même manière. Laisser décanter plusieurs heures à l'abri de la lumière et de préférence à basse température. Recueillir la phase organique, la centrifuger pour éliminer les traces d'eau. Effectuer le dosage des métaux sur cette phase organique par spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme. Pour chaque élément, se reporter à la méthode décrite dans les eaux naturelles.

Remarques

– Le chrome total après oxydation au perxénate à *p*H 8 ± 1, peut être extrait en milieu chlorhydrique (10 %) par le système MIBC-APDC.

– La concentration par extraction est aussi fréquemment effectuée par l'association dithizone-tétrachlorure de carbone ou chloroforme qui permet d'extraire à *p*H 8,5 : bismuth, cadmium, cuivre, plomb, mercure, nickel, argent, thallium, zinc.

7.3 Concentration par coprécipitation

Principe

Tout précipité tend à entraîner avec lui des substances solubles. Parmi les entraîneurs les plus efficaces figurent les hydroxydes d'aluminium, de fer ferrique et de manganèse tétravalent. Les tableaux ci-dessous montrent quels éléments sont susceptibles d'être entraînés respectivement par ces hydroxydes.

Éléments entraînés par l'hydroxyde d'aluminium (*a*) de fer ferrique (*b*) de manganèse tétravalent (*c*)
(Les éléments entraînés sont hachurés)

1	H																He	
2	Li	Be										B	C	N	O	F	Ne	
3	Na	Mg										Al	Si	P	S	Cl	A	
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	(a)
6	Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Ti	Pb	Bi	Po	At	Rn	
7	Fr	Ra	Ac																
				Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
				Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Mv	No			

1	H																He	
2	Li	Be										B	C	N	O	F	Ne	
3	Na	Mg										Al	Si	P	S	Cl	A	
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	(b)
6	Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
7	Fr	Ra	Ac																
				Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
				Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Mv	No			

1	H																He	
2	Li	Be										B	C	N	O	F	Ne	
3	Na	Mg										Al	Si	P	S	Ci	Ar	
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	(c)
6	Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Ti	Pb	Bi	Po	At	Rn	
7	Fr	Ra	Ac																
				Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
				Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Mv	No			

Coprécipitation par l'hydroxyde ferrique

Réactifs

– Solution de chlorure ferrique à 10 %.

– Acide chlorhydrique (d = 1,19).

Mode opératoire

S'assurer que l'élément à doser est bien au degré d'oxydation favorable, par exemple As (III), Se (IV). Introduire dans un bécher 1 litre d'eau de mer, ajuster le *p*H entre 4 et 6 puis ajouter 20 à 60 mg/L de chlorure ferrique. Laisser précipiter une nuit, centrifuger, recueillir le précipité puis le dissoudre dans le volume minimum d'acide chlorhydrique. Ajuster le volume à 10 mL.

Remarques

– L'extraction peut être améliorée en effectuant une deuxième coprécipitation dans les mêmes conditions.

– Le rendement de la méthode par coprécipitation varie de 95 à 100 % pour les éléments figurant sur le tableau.

Bibliographie

H. V. Weiss, M. G. Lai (1960). Cocrystallization of ultramicroquantities of alcaline earth elements with potassium rhodizonate. *Analytical Chemistry*, **32**, p. 475.

T. S. West (1961). *Anal. chim. acta*, **25**, p. 405.

H. V. Weiss, M. G. Lai (1962). Cocrystallization of ultramicroquantities of elements with thionalid. *Analytical Chemistry*, **34**, p. 1012.

A. Heres. CEA Cadarache. Communication personnelle.

7.4 Concentration par résines

Principe

L'utilisation de résines Chelex 100 permet d'éliminer une bonne partie de la matrice : sodium, potassium, magnésium, calcium.

Réactifs

– Résine Chelex 100 sous sa forme sodium.

– Acide chlorhydrique.

– Acide nitrique.

– Acide nitrique 2,5 *N*.

– Hydroxyde d'ammonium 2 *N*.

– Acétate d'ammonium *N*.

Principe

Préparation de la colonne

Laver une colonne, d'environ 1,6 mm de diamètre, successivement à l'acide chlorhydrique et à l'acide nitrique, la rincer à l'eau permutée. La résine Chelex 100, sous sa forme sodium, est versée dans de l'eau permutée et introduite dans la colonne (3,5 mL pour une filtration de 100 mL).

Laver ensuite la résine par 15 à 20 mL d'acide nitrique 2,5 *N* par portions de 5 mL de façon à éluder toute trace de contaminant métallique. Éliminer l'excès d'acide en passant sur la résine 2 fois 5 mL d'eau permutée.

Remplacer les ions Na de la résine par des ions NH_4 par passage de trois fractions de 5 mL d'ammoniaque NH_4OH 2 *N* puis rincer par trois fractions de 5 mL d'eau permutée.

Adsorption et élution

Ajuster le *p*H de l'eau de mer entre 5 et 5,5. Passer 100 mL d'échantillon à un débit de 0,8 mL/min, en prenant la précaution de ralentir le débit à 0,2 mL/min pour les premiers mL, l'augmenter ensuite jusqu'à 0,8 mL/min. Éluer sélectivement Na, K, Mg, Ca, passer 4 fractions de 10 mL d'acétate d'ammonium puis rincer par 10 mL d'eau permutée. Éluer les métaux lourds Fe, Co, Pb, Cu, Ni, Mn, Zn, Cd par 7 mL d'acide nitrique 2,5 *N*.

Remarque

Des éléments traces fixés sur colloïdes sont peu ou pas fixés par la résine ; pour leur détection, une minéralisation préalable s'impose.

Bibliographie

Riley, Skirrow (1975). *Chemical oceanography*.

Bingston, Barnes (1978). *Analytical Chemistry*, **50**, p. 2064-2070.

7.5 Détermination des éléments à l'état de traces par spectrométrie d'absorption atomique

La spectrophotométrie d'absorption atomique permet la détermination de la plupart des éléments à partir de l'échantillon concentré soit par extraction liquide-liquide soit par coprécipitation ou cocristallisation puis redissolution de l'élément. Se reporter aux différents dosages par spectrophotométrie d'absorption atomique dans les eaux naturelles (§ A-7).

7.6 Détermination des éléments à l'état de traces par polarographie à redissolution anodique

■ Principe

La cellule potentiostatique contenant la solution à analyser est équipée d'une électrode de travail spéciale à goutte pendante de mercure, d'une électrode de référence (Ag-AgCl) et d'une électrode de platine. Un potentiel négatif réglable est appliqué à l'électrode au mercure sur laquelle les ions métalliques vont se fixer. Le potentiel étant ensuite programmé linéairement dans le sens positif, les ions métalliques se redissolvent au fur et à

mesure que le potentiel caractéristique de chacun est atteint. Un pic est enregistré pour chacun des métaux, dont la position caractérise chaque métal (analyse qualitative) et dont la hauteur détermine la quantité de métal présent (analyse quantitative).

Application au dosage du zinc, cadmium, plomb et cuivre

Dans l'eau de mer les métaux peuvent être complexés par des composés organiques tels que amino-acides, acides organiques, vitamines, porphyrines, acides humiques, tanins, etc. et échapper ainsi à l'analyse. La destruction de ces complexes par acidification est rarement complète. La photo-oxydation en présence d'eau oxygénée telle qu'elle est décrite pour le dosage du phosphore organique assure une destruction complète de la matière organique et permet le dosage total de l'élément. Le dosage effectué directement sur l'échantillon permet d'obtenir la teneur de l'élément non combiné à la matière organique.

Dans la pratique, une acidification de l'eau de mer à *p*H 2 permettra de recouvrir la majeure partie des éléments à doser et évitera une manipulation longue et délicate.

☐ **Matériel spécial**

– Polarographe à redissolution anodique couplé à un enregistreur.

☐ **Réactifs**

– Tampon acétique *p*H 4.
– Azote.
– Solution mère étalon de zinc, cadmium, plomb, cuivre à 1 g/L.
– Solution fille étalon à 1 mg/L.

Diluer la solution précédente au 1/1 000.

■ Mode opératoire

Verser dans la cellule (thermostatée de préférence) l'échantillon d'eau de mer préalablement dégazé 20 min. Régler le débit d'azote et chasser l'oxygène. Former une goutte de mercure de diamètre bien établi pour le potentiel de préélectrolyse et réaliser celle-ci sous agitation et courant d'azote. Observer un temps de repos et effectuer la redissolution anodique à vitesse de balayage constante.

Conditions opératoires

Volume d'eau de mer : 40 mL.

Tampon acétique : 1 mL.

Dégazage à l'azote : 5 min.

Diamètre de la goutte : 0,835 mm.

Potentiel de préélectrolyse : 1 200 mV.

Durée de préélectrolyse : 5 min.

Agitation : 500 tr/min durant 4 min 30 s.

Temps de repos : 30 s.

Vitesse balayage : 4 mV/s.

Gamme du potentiostat : 50 nA.

Amplitude des impulsions : 20 mV.

Étalonnage

Pratiquer la méthode des ajouts dosés. Faire tomber la goutte ayant servi à la précédente analyse ainsi que les 3 ou 4 suivantes afin d'éviter les risques de diffusion à l'intérieur de la colonne capillaire de mercure. Aux 40 mL d'échantillon d'eau de mer ajouter 40 µL de solution fille étalon et effectuer l'analyse comme précédemment. Renouveler l'opération une seconde fois.

Expression des résultats

Soient h_0, h_1, h_2 les hauteurs des pics obtenues respectivement pour l'eau de mer, pour l'eau de mer + le premier ajout, pour cette dernière + 2^e ajout. Pour un élément donné, on doit avoir :

$$\Delta h = h_1 - h_0 = h_2 - h_1$$

et

$$\left.\begin{array}{l} C_{Zn}\ (\mu g/L) \\ C_{Cd,} \\ C_{Cu} \\ C_{Pb} \end{array}\right\} = \frac{h_0}{\Delta h}$$

Remarques

– Les risques de contamination étant très grands il est recommandé de laver la vaisselle avec le plus grand soin et il est indispensable de décontaminer les cellules par contact prolongé dans l'acide chlorhydrique à froid et à chaud.

– Le tampon acétique permet d'obtenir le pic du cuivre bien séparé.

– Les limites de détection sont indiquées ci-après :

antimoine	10^{-10} g
argent	10^{-10} g
bismuth	$5 . 10^{-11}$ g
cadmium	$5 . 10^{-11}$ g
cuivre	$5 . 10^{-11}$ g
mercure	$5 . 10^{-9}$ g
or	10^{-10} g
plomb	10^{-10} g
sélénium	$5 . 10^{-8}$ g
thallium	$2 . 10^{-10}$ g
zinc	$2 . 10^{-10}$ g

Bibliographie

J. Tacussel, J. J. Fombon (1974). La méthode polarographique impulsionnelle, appliquée à l'analyse des traces, en milieu marin. *Rev. Intern. Océanogr. Med.* **XXXIII**, p. 125-143.

F. Seby, M. Potin-Gautier, A. Castetbon (1993). Étude électrothermique et spéciation du sélénium en eau marine. *Journal français d'hydrologie*, **24**, (1), p. 82-90.

8 • CONSTITUANTS ORGANIQUES

Le milieu marin contient naturellement des composés organiques provenant essentiellement des organismes vivants et de leurs produits d'élimination et de dégradation.

L'augmentation significative de la concentration des composés organiques pourra être due soit à une pollution organique soit à un apport d'éléments nutritifs favorisant un accroissement de la production primaire (phytoplancton).

■ Différenciation particulaire – dissous

La séparation entre particulaire et dissous est arbitraire, son seuil de coupure est sujet à débat depuis de nombreuses années. Du point de vue biologique, jusqu'à une certaine classe de taille de particules elle est facile à mettre en place. Une filtration de 200 à 300 μm élimine le zooplancton, une deuxième filtration sur 0,45 μm permet de séparer les cellules phytoplanctoniques vivantes et mortes de la matière organique en solution. Cependant la présence de picoplancton (0.2 – 2 μm), de femtoplancton (0.02 – 0,2 μm) et de virus n'a pas éclairci les débats sur la différenciation entre particulaire et « vraie » dissous.

Du point de vue chimique, en milieu aqueux, une molécule est « dissoute » si le minimum d'énergie libre est atteint par hydratation de tous les sites hydrophiles potentiels. Une association de molécules amenant une perte d'eau et la formation d'espèces moins hydrophiles tend à extraire l'assemblage moléculaire résultant de la solution (Sharp 1977) d'où la difficulté à différencier dans une solution aussi complexe que l'eau de mer le dissous du particulaire. Quand une espèce chimique est en solution dans un solvant, c'est un « sol ». On parlera de sol vrai si la taille de l'espèce chimique est de l'ordre d'une molécule et de solution colloïdale si sa taille est de l'ordre de la centaine d'Angstrôm (Henry 1983). Dans la communauté océanologique internationale (Golberg, 1988) la limite de taille des colloïdes est fixée entre 1nm et 1μm.

Suite à l'ensemble de ces considérations, certains expérimentateurs fixent la limite de séparation à 0,45 μm, d'autres tenant compte de l'aspect biologique et chimique considèrent le seuil de 0,2 μm comme étant le plus approprié (Antia et al. 1991).

Bibliographie

N. J. Antia, P. J. Harrison, L. Olivera (1991). The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. Phycologia, 30, (1), p. 1-89.

E. D. Golberg (1988). Modern chemistry and chemical technology applied to the oceans and its resources. Applied Geochemistry, 3, p. 1-135.

J. H. Sharp (1977). Excretion of organic matter by marine phytoplankton : Do healthy cells do it ? Limnol. Oceanogr., 22, p. 381-399.

Prélèvements

Prélever les échantillons dans des flacons en polyéthylène lavés à l'acide puis rincés à l'eau permutée pour assurer l'élimination de sécrétions de bactéries sur les parois des flacons. Effectuer l'analyse immédiatement après le prélèvement ou conserver l'échantillon à – 20 °C et à l'obscurité.

8.1 Azote organique

Dans l'eau de mer l'azote se présente sous différentes formes :

– l'azote inorganique dont la détermination sous ses différentes formes est une donnée essentielle pour la connaissance du milieu marin : ammonium (0 à 50 μg/L), nitrites (0 à 50 μg/L), nitrates (0 à 500 μg/L) ;

– l'azote organique qui peut être déterminé après une minéralisation du type Kjeldahl par le dosage de l'ammonium ou après photo-oxydation par le dosage des nitrates et des nitrites.

Une autre méthode pour mesurer l'azote organique dissous consiste à mesurer l'azote total dissous par oxydation à haute température et de soustraire de la valeur obtenue, la somme des concentrations d'azote sous forme minérale (NH_4^+, NO_3^-, NO_2^-).

8.1.1 Méthode par dosage de l'ammonium après minéralisation

Se référer au paragraphe A-9.6 relatif au dosage dans les eaux naturelles.

Réactifs

– Eau de mer artificielle (*voir* C.4.1.1).

– Acide sulfurique (d = 1,48) exempt d'azote.

– Eau oxygénée à 30 %.

– Réactifs utilisés pour le dosage de l'ammonium dans les eaux naturelles (*voir* A.8.1).

Mode opératoire

Dans un matras de 100 mL introduire 25 mL d'eau de mer et 0,5 mL d'acide sulfurique. Chauffer jusqu'à fumées blanches, poursuivre le chauffage 5 minutes. Après refroidissement ajouter avec précaution 0,1 mL d'eau oxygénée, chauffer à nouveau 2 minutes puis recommencer une fois cette opération. Laisser ensuite refroidir et ajouter 10 mL d'eau. Ajuster le *p*H au voisinage de 7 avec une solution d'hydroxyde de sodium, compléter le volume à 50 mL. Doser l'ammonium sur l'échantillon ainsi obtenu et sur l'échantillon non minéralisé par la méthode au bleu d'indophénol décrite pour les eaux naturelles (A.8.1.1), en utilisant de l'eau de mer artificielle pour la préparation des solutions étalons.

Expression des résultats

La teneur en azote organique est obtenue par différence entre l'azote total et l'azote ammoniacal.

Remarque

La minéralisation peut également être effectuée en utilisant la méthode décrite pour l'azote Kjeldahl dans les eaux naturelles (§ A-9.6.1).

8.1.2 Méthode par dosage des nitrites et nitrates après photo-oxydation

■ Principe

L'irradiation de l'eau de mer à une longueur d'onde inférieure à 250 nm provoque l'oxydation des composés organiques azotés ainsi que celle de l'azote ammoniacal.

□ Matériel spécial

Se reporter au dosage du phosphore organique dans l'eau de mer (E-5.7.3).

□ Réactifs

– Se reporter au dosage des nitrates et des nitrites dans l'eau de mer (E-5.5 et E-5.6) et à celui de l'azote ammoniacal dans les eaux naturelles (§ A-7.3).

– Eau oxygénée à 30 %.

■ Mode opératoire

Prélever 100 mL d'échantillon, ajouter 2 gouttes d'eau oxygénée et irradier le temps nécessaire suivant la puissance de la lampe. Effectuer le dosage des nitrates et des nitrites sur l'échantillon irradié et non irradié selon les méthodes décrites pour l'eau de mer ainsi que le dosage de l'ammonium sur l'échantillon non irradié selon la méthode décrite pour les eaux naturelles.

■ Expression des résultats

La teneur en azote organique est obtenue par différence entre l'azote total de l'échantillon irradié et l'azote nitreux, nitrique, et ammoniacal de l'échantillon non irradié.

Remarque

Au cours de l'irradiation une teneur suffisante en oxygène dissous est nécessaire ; elle est assurée par l'utilisation d'eau oxygénée. En cas d'irradiation de longue durée, de l'oxygène à faible débit peut être insufflé dans l'échantillon.

Bibliographie

F.O. Miller, E.E. Miller (1948). *Anal. Chem.*, **20**, p. 481.

F.A.J. Armstrong, P.M. Williams, J.D.H. Strickland (1966). Photooxydation of organic matter in sea water by U.V. radiation, analytical and other applications. *Nature*, **211**, p. 481.

D.A. Bronk, M.W. Lomas, P.M. Glibert, K.J. Schukert, M.P. Sanderson (2000). Total dissolved nitrogen analysis : comparisons between the persulfate, UV and high temperature oxidation methods. Marine Chemistry, 69, p. 163-178.

8.1.3 Méthode par dosage des nitrates après oxydation par le persulfate de potassium sous pression

Cette méthode est d'une mise en œuvre plus facile que la méthode de Kjeldahl, d'autre part l'oxydation des composés azotés organiques est plus complète qu'avec la photo-oxydation par le rayonnement ultraviolet.

Se référer au paragraphe A-9.6.2 relatif au dosage dans les eaux naturelles.

☐ **Matériel spécial**

– Flacons en téflon de 125 mL avec bouchons à vis.
– Autoclave.
– Matériel pour le dosage des nitrates (E-5.6.1).
– Agitateur électromagnétique avec barreau recouvert de téflon.

☐ **Réactifs**

– Réactifs nécessaires au dosage des nitrates (E-5.6.1).
– Solution d'hydroxyde de sodium à 60 g/L.

Conservée en flacon en polyéthylène bien bouché, cette solution est stable plusieurs mois.

– Réactif oxydant :

persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) recristallisé 2 fois	6 g
solution d'hydroxyde de sodium à 60 g/L	100 mL

Dissoudre le persulfate de potassium en utilisant un agitateur électromagnétique.

Conservée dans un flacon en verre borosilicaté ou en téflon, bien bouché et à l'obscurité, cette solution est stable 8 jours.

– Solution d'acide chlorhydrique (1,4 *M*) :

acide chlorhydrique concentré	100 mL
eau déionisée	850 mL

Déterminer par titration le volume de solution chlorhydrique nécessaire pour amener le mélange de 40 mL d'eau permutée et 6 mL de réactif oxydant dans la zone de *p*H comprise entre 2,6 et 3,2, soit *X* mL.

– Solution tampon :

chlorure d'ammonium		75 g
solution d'hydroxyde de sodium	*q.s.p.*	*p*H 8,5
eau déionisée	*q.s.p.*	500 mL

Dissoudre le chlorure d'ammonium dans 400 mL d'eau permutée. Ajuster le *p*H à 8,5 par addition de solution d'hydroxyde de sodium. Ajuster le volume à 500 mL avec de l'eau permutée.

Conservée dans un flacon bien bouché, cette solution est stable.

– Eau de mer artificielle (*voir* E-4.1.1).

■ Établissement de la courbe d'étalonnage

Oxyder 40 mL d'une solution étalon d'azote nitrique à 0,1 g/L d'eau de mer artificielle selon le procédé décrit dans le mode opératoire. À partir de la solution obtenue, procéder à une série de dilutions comprises entre 0 et 1 mg/L. Préparer un témoin de manière identique à partir de 40 mL d'eau de mer artificielle.

Poursuivre comme pour le mode opératoire par le dosage des nitrates. Établir la courbe d'étalonnage en tenant compte de la valeur lue pour le témoin.

■ Mode opératoire

Introduire 40 mL d'échantillon d'eau de mer dans un flacon en téflon, ajouter exactement 6 mL de réactif oxydant. Visser le bouchon. Mettre le flacon à l'autoclave 30 min à une pression de 7 kg et à 120 °C. Après refroidissement, ouvrir le flacon et ajouter avec précision *X* mL de solution d'acide chlorhydrique 1,4 *N*. Mélanger pour dissoudre le précipité. Transférer la solution dans

une fiole jaugée de 100 mL, ajouter 3 mL de solution tampon, ajuster le volume à 100 mL. Mélanger, puis doser les nitrates selon la méthode décrite pour l'eau de mer.

Effectuer parallèlement le dosage des nitrates, nitrites, ammonium sur un échantillon non oxydé.

Expression des résultats

Le teneur en azote organique est obtenue par différence entre l'azote total de l'échantillon oxydé et l'azote nitreux, nitrique et ammoniacal de l'échantillon non oxydé.

Remarques

– La valeur du *p*H est importante au cours du développement de la méthode. L'oxydation devra être effectuée à un *p*H compris entre 12,6 et 13,2. La dissolution du précipité formé au cours de l'oxydation est assurée à un *p*H compris entre 2,6 et 3,4. Quant à la réduction des nitrates, elle se produit à un *p*H compris entre 8 et 8,4.

– Une déformation des flacons en téflon peut survenir au cours de leur séjour à l'autoclave ; celle-ci est temporaire, la forme initiale revient par pénétration de l'air.

– La transformation complète de l'azote organique en nitrates est généralement accomplie. L'urée figure parmi les composés les plus difficiles à oxyder. Dans les conditions décrites, elle doit être au moins de 90 %.

Bibliographie

SOLORZANO (1980). SHARP. *Limnol Oceanogr.*, **25**, p. 751.

8.1.4 Méthode de dosage de l'azote total par oxydation à haute température

Se référer au paragraphe A-9.3 relatif au dosage dans les eaux naturelles.

Principe

Un volume de 50 à 100 µl d'eau de mer est introduit dans un tube de combustion situé dans un four chauffé à 720 °C. Sous l'effet de la combustion, l'azote total contenu dans l'échantillon se décompose en monoxide d'azote. Dans ces conditions, l'azote gazeux n'est pas transformé en monoxide d'azote. Après refroidissement et déshumidification la quantité de monoxide d'azote est mesurée par chimiluminescence.

L'étalonnage de la méthode sa fait à partir d'une gamme de concentrations connues de nitrate de potassium (KNO_3).

Expression des résultats

Le résultat final correspond à la concentration totale de l'azote dissous, sous forme organique et minérale. La concentration en azote organique dissoute s'obtient en soustrayant du résultat les concentrations de chacune des formes minérales (NH_4^+, NO_3^-, NO_2^-) dosées selon leur méthode spécifique.

Bibliographie

D. A Bronk, M. W. Lomas, P. M. Glibert, K. J. Schukert, M. P. Sanderson (2000). Total dissolved nitrogen analysis : comparisons between the persulfate, UV and high temperature oxidation methods. Marine Chemistry, 69, p. 163-178.

D. A. Bronk (2002). Dynamic of DON. In : Biogeochemistry of Marine Dissolved organic Matter Hansell D.A., Carlson C.A., Eds. p. 153-247. Academic Press, San Diego.

J. H. Sharp, A. Y. Beauregard, D. Burdige, G. Cauwet, S. E. Curless, R. Lauck, K. Nagel, H. Ogawa, A. E. Parker, O. Primm, M. Pujo-Pay, W. B. Savidge, S. Seitzinger, S. Spyres, R. Styles (2004). A direct instrument comparison for measurement of total dissolved nitrogen in seawater.

8.2 Carbone organique

L'oxydation catalytique est une méthode de choix pour la détermination du carbone total et du carbone minéral contenu dans l'eau de mer (se reporter au dosage du carbone organique dans les eaux naturelles (§ A-9.4) ou dans les eaux résiduaires (§ D-2.9).

Remarques

– Les solutions étalons sont préparées avec l'eau de mer artificielle (*voir* E-4.1.1).

– L'importante charge soluble des eaux de mer provoque un encrassement rapide des supports inertes et des catalyseurs des fours à basse et haute température, ce qui se traduit par une baisse de sensibilité et de répétabilité. Il est donc nécessaire de procéder fréquemment au nettoyage et à la recharge des fours.

– Remplacer fréquemment le catalyseur pour éviter le dépôt du chlorure de sodium dont la température de fusion est inférieure à 900 °C.

8.3 Demande biochimique en oxygène (DBO)

L'application du test de la DBO aux eaux de mer appelle beaucoup de réserves. La dégradation de la matière organique par les microorganismes, principe même de la méthode, ne recouvre pas la complexité des processus biologiques du milieu marin dans lesquels intervient de plus le phytoplancton, producteur d'oxygène. Les conditions de température et la durée de l'essai ne correspondent en rien aux conditions naturelles. Seules les méthodes instrumentales permettent, semble-t-il, d'apporter des renseignements utiles à condition toutefois de préciser les conditions opératoires : *p*H, température, ensemencement, courbe de consommation d'oxygène, etc. (se reporter à la détermination de la DBO dans les eaux résiduaires, § D-2.8).

8.4 Demande chimique en oxygène (DCO)

Comme il a été indiqué pour les eaux résiduaires, la détermination de la DCO est perturbée par la présence de quantités importantes de chlorure de

sodium, l'élimination des chlorures par le sulfate d'argent n'est pas satisfaisante et, de plus, très onéreuse. L'application de cette méthode en milieu marin est à déconseiller. Le dosage du carbone organique par oxydation catalytique permet une bonne approche de la DCO.

8.5 Oxydabilité au permanganate de potassium (indice permanganate)

Comme pour la DCO, la présence de chlorures gêne la détermination (§ A-9.1).

9 • DOSAGES PARTICULIERS

9.1 Oxygène dissous

9.1.1 Méthode de Winkler (modifiée par Alsterberg)

Cette méthode volumétrique reste la méthode la plus reproductible et la plus précise pour le dosage de l'oxygène dissous, à condition de respecter scrupuleusement certains points de la méthodologie.

Cette méthode est d'autant plus importante à connaître qu'elle sert de référence pour la validation des mesures par sonde océanographique.

■ Principe

Se reporter au dosage de l'oxygène dissous dans les eaux naturelles (§ A-4.3.1).

□ Prélèvements

Utiliser des flacons spéciaux, mais tout flacon en verre de 100 à 130 mL à rodage normalisé convient. Déterminer par pesée le volume exact du flacon. Pour éviter le risque de perte d'iode au cours des manipulations, procéder au dosage, directement dans le flacon de prélèvement.

Effectuer le prélèvement, en évitant tout barbotage d'air atmosphérique. Pour cela, adapter au flacon de prélèvement un tuyau souple obturé par un robinet ou une pince de Mohr, le faire arriver au fond du flacon. Faire couler l'eau à faible débit au début, puis plus rapidement mais sans provoquer de fortes turbulences. Lorsque le flacon est plein, laisser déborder une quantité d'eau correspondant à environ une fois le volume du flacon, retirer le tuyau lentement en arrêtant l'écoulement juste avant que son extrémité n'entre en contact avec l'air. Ajouter immédiatement et avec précaution les réactifs sans introduire de bulles d'air. Boucher sans emprisonner d'air puis agiter pour disperser le précipité.

Effectuer le dosage le plus rapidement possible après le prélèvement dans un délai ne dépassant pas 24 heures et en évitant toutes variations de température, en particulier, ne pas conserver les flacons au réfrigérateur.

□ Réactifs

– Eau de mer artificielle (*voir* E-4.1.1).

– Solution de sulfate manganeux :

sulfate manganeux ($MnSO_4$, 4 H_2O)		670 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

– Solution basique d'iodure :

hydroxyde de sodium	320 g
iodure de sodium	600 g

azoture de sodium		10 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dissoudre séparément l'hydroxyde de sodium, l'iodure de sodium dans 300 à 350 mL d'eau et l'azoture de sodium dans 40 mL, mélanger les solutions et ajuster le volume à 1 litre.

– Acide sulfurique (d = 1,83).

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L ou thiodène.

– Solution de thiosulfate de sodium 0,01 N :

thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$, 5 H_2O)		2,48 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Vérifier le titre de cette solution avant chaque série de dosage.

– Solution étalon d'iodate de potassium 0,01 N :

iodate de potassium		0,3567 g
eau déionisée	*q.s.p.*	1 000 mL

Dessécher l'iodate de potassium 1 heure à 105 °C. Cette solution est stable, l'agiter avant l'utilisation et reboucher le flacon immédiatement après.

Mode opératoire

Le prélèvement terminé, introduire aussitôt très près du fond du flacon 1 mL de solution de sulfate de manganèse et 1 mL de solution basique d'iodure pour une prise d'échantillon de 100 à 150 mL. Boucher rapidement le flacon sans emprisonner de bulles d'air. Agiter par un mouvement rotatif pour disperser uniformément le précipité. Laisser celui-ci se rassembler dans les 2/3 inférieurs du flacon. Renouveler l'agitation, attendre à nouveau la sédimentation du précipité. Ajouter 1 mL d'acide sulfurique, reboucher le flacon en veillant toujours à ne pas emprisonner d'air, agiter jusqu'à dissolution complète du précipité. Conserver le flacon à l'obscurité, effectuer le dosage 1 heure au maximum après acidification. Retirer directement dans le fond un volume de solution suffisant pour permettre l'addition de thiosulfate de sodium. Titrer par ce dernier en agitant lentement pour homogénéiser jusqu'à décoloration presque totale. Introduire 1 mL de solution d'amidon et terminer le dosage goute à goutte en agitant plus rapidement jusqu'à décoloration complète persistant 20 secondes. Procéder rapidement mais en attendant l'homogénéisation de la solution après chaque ajout.

Procéder à un dosage témoin sur les réactifs. Remplir un flacon d'eau de mer artificielle puis introduire successivement, avec toutes les précautions décrites et en agitant après chaque addition de réactif, 1 mL d'acide sulfurique, 1 mL de solution d'iodate de sodium puis 1 mL de sulfate de manganèse. Effectuer le dosage par le thiosulfate de sodium soit p le nombre de millilitres versés.

Expression des résultats

La teneur en oxygène dissous exprimée en mg/L est donnée par la relation :

$$O_2\ (\text{mg/L}) = \frac{T \times (V - p)}{4} \times 22{,}4 \times \frac{1\,000}{n} \times \frac{N}{N - v}$$

N = Volume du flacon (mL).

n = Volume (mL) de solution sur lequel est effectué le dosage par le thiosulfate de sodium.

V = Volume (mL) de solution de thiosulfate versé.

T = Titre de la solution de thiosulfate.

v = Volume de réactifs introduits (solution de sulfate de manganèse et d'iodate de sodium).

Remarques

– Les causes principales d'erreurs au cours du dosage sont : l'oxydation de l'iodure à l'air, la volatilisation de l'iode, l'apport d'oxygène par les réactifs, la consommation ou la production d'iode par des réactifs insuffisamment purs, la différence entre le point équivalent réel et celui de fin de dosage.

– Après la précipitation de l'hydroxyde de manganèse, l'échantillon peut être conservé en prenant la précaution d'immerger les flacons pour éviter une entrée d'air par dessèchement du rodage ou contraction du volume.

Bibliographie

CNEXO. Réseau National d'Observation de la Qualité du Milieu Marin. *Manuel des méthodes de prélèvements et d'analyse*.

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336 p. Chap. VII, Mesure de la concentration en oxygène dissous.

9.1.2 Méthode potentiométrique

Se référer au paragraphe A-4.3.2 (dosage dans les eaux naturelles).

■ Rappel de principe

La réduction de l'oxygène au niveau d'une cathode convenable engendre un courant proportionnel à la pression partielle d'oxygène dans une solution.

■ Pression partielle et concentration

La concentration en sels dissous ne modifie pas la pression partielle de l'oxygène dans la solution (grandeur mesurée) mais affecte la concentration en oxygène dissous (exprimée en masse par volume) qui décroît lorsque la concentration en sels augmente.

La correction de cette interaction peut être obtenue par l'étalonnage de l'appareil dans des solutions de même salinité que le milieu à tester et préalablement saturées en oxygène, par équilibre avec l'air à une pression de 10^5 Pa.

Les diverses tables indiquant la solubilité de l'oxygène dans les eaux douces et salées présentent quelques différences assez minimes au regard de la précision de la mesure : la table de Montgomery (se reporter aux eaux naturelles, § A-3.3, p. 466), permet de calculer la solubilité de l'oxygène dans les eaux salées.

Solubilité à t °C de l'oxygène dans une eau à x g/L de NaCl

= solubilité à t °C de l'oxygène dans l'eau pure – $x.\ \Delta C$.

Cette correction n'est pas valable lorsque la salinité de l'eau est très supérieure à celle de l'eau de mer.

Remarques

– Les difficultés de l'étalonnage dans des solutions d'eau de mer artificielle en équilibre avec l'air rendent l'usage de cette correction difficile lors des mesures *in situ*.

– Dans le cas particulier où l'on recherche plus des mesures *relatives* que des valeurs absolues, il est possible d'utiliser une correction approchée en supposant que la correction vraie ΔC applicable à saturation est proportionnelle à la teneur en oxygène.

– La formule de correction approchée peut s'exprimer ainsi :

$$\text{O corrigé} = \text{O mesuré} - \frac{x \times \Delta C \times \text{O mesuré}}{\text{O saturation}}$$

O corrigé = Concentration en oxygène corrigée.

O mesuré = Concentration en oxygène mesurée *in situ* après étalonnage de l'appareil dans l'air.

O saturation = Concentration à saturation de l'oxygène dans l'eau pure à la température de la mesure.

x = Concentration de l'échantillon, exprimée en grammes par litre en NaCl.

Bibliographie

H.A. Montgomery, N.S. Thom, A. Cockburn (1964). Determination of dissolved oxygen by the Winckler method and the solubility of oxygen in pure water and sea water. *J. Appl. Chem.*, **14**, p. 280.

9.2 Résidus d'hydrocarbures

Deux méthodes permettent le dosage des résidus d'hydrocarbures du pétrole dans l'eau de mer avec des sensibilités différentes. La méthode par spectrométrie infrarouge convient à des concentrations comprises entre 0,5 et plusieurs dizaines de milligrammes d'hydrocarbures par litre d'eau. Elle s'adresse particulièrement à des cas de pollutions accidentelles par ces produits.

Elle est maintenant remplacée par des méthodes chromatographiques telles que décrites dans les eaux naturelles pour :

– les hydrocarbures totaux (§ A-10.18),

– les hydrocarbures halogènes volatils (§ A-10.17),

– les hydrocarbures aromatiques monocycliques (§ A-10.15) ou polycycliques (§ A-10.16).

La méthode par fluorimétrie, très sensible, est recommandée pour les eaux de mer dont la concentration est comprise entre 0,05 et 0,5 mg/L.

9.2.1 Méthode par spectrométrie infrarouge

La méthode infrarouge de dosage des résidus d'hydrocarbures (dite indice hydrocarbure) est peu utilisée.

☐ **Prélèvements**

Prélever l'eau de mer dans des flacons en verre teinté de 2 litres à bouchon vissé avec un disque d'étanchéité en téflon. Conserver les échantillons au réfrigérateur à 4 °C.

■ Mode opératoire

Agiter le flacon bouché pour homogénéiser l'échantillon. Transvaser les 2 litres d'eau dans une ampoule à décanter, amener à *p*H 5 avec de l'acide chlorhydrique, ajouter 10 g de chlorure de sodium, 20 mL de tétrachlorure de carbone. Fixer l'ampoule sur l'agitateur, agiter pendant 30 min, laisser reposer, séparer la phase organique dans un bécher de 100 mL contenant 1 g de sulfate de sodium anhydre, puis transvaser le tétrachlorure de carbone dans un deuxième bécher, ajuster le volume à 20 mL, puis tracer le spectre d'absorption infrarouge de 3 à 3,70 μm.

Faire la somme des absorbances à 3290 nm, 3380 nm, 3420 nm et 3510 nm. Se reporter à un échantillonage utilisant un mélange d'isooctane (37,5 g), d'hexédécane (37,5 g) et de toluène (25 g).

9.2.2 Méthode par fluorimétrie

La faible concentration des eaux de mer, dans leur état naturel, en hydrocarbures provenant du pétrole (de l'ordre du microgramme) exige une méthode analytique sensible. Une méthode simple par spectrométrie de fluorescence répond à ces exigences. La limite de détection dépend du volume d'eau traitée et de la sensibilité de l'appareillage.

Si les conditions d'extraction sont respectées, la récupération des hydrocarbures est de l'ordre de 87 % pour une concentration de 1 mg/L.

■ Principe

Les traces d'hydrocarbures du pétrole dans l'eau de mer sont extraites par du chlorure de méthylène immédiatement après le prélèvement. Dans l'attente de l'analyse, les extraits sont conservés à l'obscurité et à 5 °C. Puis le solvant est évaporé dans un évaporateur rotatif à 30 °C. Le résidu est repris par 10 mL de *n*-hexane et la fluorescence mesurée à 310 nm d'excitation et à 374 nm d'émission.

☐ **Prélèvements**

Recueillir les prélèvements dans des flacons en verre (*voir* méthode précédente).

☐ **Matériel spécial**

– Ampoules à décanter de 0,2 et 2 litres.

– Évaporateur rotatif avec flacons d'une capacité de 200 mL.

– Spectrofluorimètre.

☐ **Réactifs**

– Réactifs de qualité pour spectrométrie.

– Chlorure de méthylène.

– *n*-hexane.

– Acétone.

– Solution mère étalon de l'hydrocarbure suspecté ou, à défaut, d'un mélange d'hydrocarbures à 1 g/L.

mélange d'hydrocarbures		1 g
n-hexane	*q.s.p.*	1 L

Préparer une solution en mélangeant 37,5 g d'isooctane, 37,5 g d'hexadécane et 25 mL de toluène.

Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la solution mère étalon, préparer une série de dilutions comprises entre 0,050 et 0,5 mg/L dans le chlorure de méthylène, puis poursuivre comme dans le mode opératoire. Tenir compte de la valeur d'un témoin obtenu à partir de 80 mL de chlorure de méthyle traité comme dans le mode opératoire. Tracer la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 1 litre d'eau de mer dans une ampoule à décanter de 2 litres et extraire les hydrocarbures par 3 extractions successives avec, respectivement 40, 30 et 20 mL de chlorure de méthylène. Soutirer la phase solvant dans un flacon en verre de 100 mL, le fermer hermétiquement avec un bouchon à vis protégé par un disque de papier d'aluminium rincé au chlorure de méthylène.

Conserver cet extrait à l'obscurité et à 5 °C. Transvaser l'extrait dans le ballon d'un évaporateur rotatif. Évaporer à siccité sous vide à 30 °C.

Reprendre le résidu par 10 mL de *n*-hexane.

Exciter les hydrocarbures à 310 nm et mesurer la fluorescence à 374 nm. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La teneur en hydrocarbures est exprimée en milligramme par litre d'eau de mer.

Remarques

– Avant leur usage, traiter verrerie et flacons de prélèvements successivement : à l'acide, à l'eau permutée, à l'acétone et au chlorure de méthylène.

– L'avantage de l'utilisation du chlorure de méthylène sur le tétrachlorure de carbone comme solvant d'extraction a été démontré par Keizer et Coll.

– Effectuer l'extraction au maximum 5 heures après le prélèvement.

– Cette méthode n'est pas spécifique des hydrocarbures de pétrole. Elle détecte aussi les composés fluorescents extraits par le chlorure de méthylène tels que les lipides des milieux organiques vivants qui ne sont pas éliminés au cours de l'évaporation. Dans ce cas, la purification de l'extrait est obtenue en le faisant passer sur une colonne de gel de silice avant la mesure de la fluorescence, pour éliminer les dérivés organiques polaires. Pour cela, remplir une colonne de verre de 1 cm de diamètre et 15 cm de longueur avec du gel de silice 20-40 mesh, la rincer avec du *n*-hexane. Après évaporation à siccité du chlorure de méthylène, dissoudre le résidu dans 3 mL de *n*-hexane et faire passer la solution à travers la colonne. Éluer avec du *n*-hexane jusqu'à obtention d'un volume exact de 36 mL. Introduire l'éluat dans le ballon d'un évaporateur rotatif et l'évaporer à siccité. Reprendre le résidu par 10 mL de *n*-hexane. Mesurer la fluorescence comme dans le mode opératoire.

Les lipides les plus polaires d'origine biologique sont retenus dans la colonne à condition de respecter le volume de 36 mL pour l'élution.

– Des informations précises sur les types d'hydrocarbures peuvent être obtenues par chromatographie liquide.

– Le 1,2-benzophénanthrène (chrysène) peut être également utilisé comme étalon à la place des huiles brutes. Le facteur de conversion sera établi par comparaison des fluorescences du chrysène et des huiles brutes.

Bibliographie

WARE, LEWIS (1972). *J. Chem. Phy.*, **57**, p. 3546.

KEIZER, GORDON (1973). *J. Fish. Res. Bd.*, Canada, **30**, p. 1039.

ZSOLNAY (14-18 juin 1976). Second IOC/WMo workshop on marine pollution (petroleum) monitoring. Monte Carlo, Monaco.

SHIGEHARA et *al.* (1979). *Oceanographical Magazine*, **30**, p. 61.

9.3 Estimation de la radioactivité due aux émetteurs gamma

■ Principe

Le prélèvement d'eau de mer, préalablement filtrée, passe à travers une cartouche de ferrocyanure de cuivre qui concentre le césium ; l'activité des césium 134 et 137 est déterminée par spectrométrie γ de la cartouche.

□ Matériel utilisé

– Ensemble de spectrométrie γ type germanium.

– Cartouche de ferrocyanure de cuivre avec une grille en amont et aval et une capacité démontable contenant l'adsorbant : diamètre intérieur : 20 mm; longueur : 30 mm, soit une capacité d'environ 10 cm^3.

– Étuve de laboratoire.

– Pompe : débit utile environ 6 L/h.

□ Réactif spécifique

Ferrocyanure de cuivre (granulométrie 0,2 à 0,5 mm) : des lavages du réactif, à l'eau permutée, doivent permettre d'éliminer la totalité des particules fines.

■ Mode opératoire

Le prélèvement de 100 L d'eau de mer est filtré à travers un filtre sans cendres, puis acidifié avec de l'acide chlorhydrique (1 mL par litre d'eau) ; l'eau de mer circule à travers la cartouche contenant le ferrocyanure de cuivre avec un débit maximum de 6 L/h pendant environ 15 à 20 heures. La cartouche est ensuite rincée avec 100 mL d'eau déminéralisée puis démontée ; le ferrocyanure est séché en étuve à 60 °C environ puis homogénéisé et placé dans un flacon de géométrie adapté à 10 cm^3 pour la mesure par spectrométrie γ.

Remarques

– La limite de détection dépend de la caractéristique de l'ensemble de spectrométrie γ : détecteur GeHP d'efficacité relative entre 10 et 50 %, équipement à bas bruit de fond : ordre de grandeur pour une mesure de 1000 minutes en ^{134}Cs et en ^{137}Cs, 3 à 15 Bequerels par mètre cube d'eau de mer (0,8 à $4 \cdot 10^{-10}$ Ci/m^3).

– D'autres radionucléides tels que ruthénium-rhodium : ^{103}Ru + ^{103}Rh et ^{106}Rh, césium-praséodyme : ^{144}Ce + ^{141}Pr et ^{144}Pr, zirconium-niobium : ^{95}Zr + ^{95}Nb, cobalt : ^{57}Co, ^{58}Co, ^{60}Co peuvent être séparés sous forme de sulfures en utilisant comme entraîneur le cobalt dont le sulfure a une très faible solubilité.

Dans ce cas, l'eau de mer ayant circulé à travers la cartouche de ferrocyanure de cuivre est additionnée de 20 g de nitrate de cobalt cristallisé ; le sulfure de cobalt entraîneur est précipité par addition, sous agitation, de 60 mL de solution de sulfure d'ammonium à 20 %. Laisser décanter le sulfure de cobalt et soutirer l'eau de mer surnageante. Le sulfure de cobalt est récupéré, centrifugé et séché en étuve puis homogénéisé et placé dans une géométrie adaptée et étalonnée pour la mesure par spectrométrie γ. La limite de détection sera fonction, pour chaque radionucléide identifié, du détecteur, de l'équipement de mesure, de l'énergie γ et du taux d'émission γ : ordre de grandeur pour 100 L d'eau de mer traitée avec 1 000 minutes de mesure : ^{57}Co, ^{58}Co, ^{60}Co : 2 à 15 Bq/m^3 (0,5 à 4 . 10^{-10} Ci/m^3) ; ^{103}Ru + ^{103}Rh, ^{141}Ce + ^{141}Pr, ^{95}Zr + ^{95}Nb : 10 à 40 Bq/m^3 (3 à 10 . 10^{-10} Ci/m^3) ; ^{106}Ru + ^{106}Rh, ^{144}Ce + ^{144}Pr : 30 à 100 Bq/m^3 (1 à 3 . 10^{-9} Ci/m^3).

Bibliographie

J. Scheidhauer, G. Vergnaud, A. Flamant (septembre 1968). Séparation des radiocésium par le ferrocyanure de cobalt-potassium. Rapport CEA 3585.

9.4 Uranium

Cette méthode est applicable aux solutions salines et à l'eau de mer pour des concentrations comprises entre 0,1 et 100 mg/L.

■ Principe

Après extraction par la méthylisobuthylcétone l'uranium est dosé par spectrofluorimétrie selon la méthode décrite pour les eaux naturelles (A-8.4.1).

□ Matériel spécial

– Ampoule à décanter de 2 L et de 60 mL.
– Capsules de porcelaine de 60 mL.
– Plaque chauffante.
– Four à mouffle.
– Spectrofluorimètre.

□ Réactifs

– Acide nitrique dilué au 1/10e (en volume).
– Méthylisobuthylcétone.
– Solution purifiée de nitrate d'aluminium à 940 g/L :

nitrate d'aluminium ($AlNO_3$, 9 H_2O)		940 g
hydroxyde d'ammonium dilué au 1/2 (en volume)		100 mL
eau déionisée	*q.s.p.*	1 L

Introduire le nitrate d'aluminium dans un bécher de 1 L, verser 500 mL d'eau déionisée. Dissoudre à chaud, puis ajouter en agitant 100 mL d'hydroxyde d'ammonium. Après refroidissement, compléter le volume à 1 L.

Pour purifier la solution, la transvaser dans une ampoule à décanter de 2 L contenant 10 mL d'acide nitrique dilué au 1/10, ajouter 250 mL de méthylisobuthylcétone. Agiter

1 minute. Après séparation des phases, recueillir la phase aqueuse et la filtrer sur papier filtre (Whatman).

– Solution de jaune de méthanile à 0,1 % dans l'éthanol pur.

– Acide phosphorique.

– Solution de persulfate de potassium et solutions étalons.

Se reporter au dosage spectrofluorimétrique de l'uranium dans les eaux naturelles.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série d'ampoules à décanter de 60 mL, introduire successivement :

Numéro des ampoules	T	I	II	III
Acide nitrique dilué au 1/10 (mL)	5	5	5	5
Solution étalon à 1 mg/L (mL)	0	0,1	0,2	0,5

Poursuivre comme dans le mode opératoire à partir de l'addition de solution de jaune de méthanile.

Mode opératoire

Introduire 2 mL d'eau à analyser dans une capsule de porcelaine. Évaporer à siccité sur la plaque chauffante. Reprendre le résidu par 10 mL d'acide nitrique dilué au 1/10.

Introduire dans une ampoule à décanter 5 mL de cette solution. Ajouter 1 goutte de solution de jaune de méthanile. Neutraliser la solution jusqu'à son virage au jaune avec la solution d'hydroxyde d'ammonium dilué au demi.

Verser 10 mL de solution de nitrate d'aluminium. Mélanger puis ajouter 5 mL de méthylisobuthylcétone. Agiter 10 secondes puis laisser décanter. Recueillir la phase organique dans une capsule de porcelaine et traiter la phase aqueuse une deuxième fois de manière identique à la précédente. Après décantation, recueillir la phase organique et la joindre au contenu de la capsule.

Évaporer la méthylisobuthylcétone avec précaution jusqu'à siccité, puis minéraliser à 600 °C pendant 40 minutes. Reprendre le résidu encore tiède par 10 mL d'acide phosphorique à 10 % et procéder au dosage fluorimétrique selon le mode opératoire décrit pour les eaux naturelles.

Expression des résultats

Se reporter au dosage spectrofluorimétrique de l'uranium dans les eaux naturelles (§ A-8.4.1).

Bibliographie

Sarda M. A. Comurhex. Communication personnelle.

9.5 Chlorophylle

En milieu marin, comme en eau douce, la mesure de la chlorophylle permet de caractériser la biomasse (quantité de matière vivante) phytoplanctoni-

que. C'est un descripteur de la capacité de production d'un végétal. D'une manière générale, la mesure des pigments phytoplanctoniques est basée sur leurs propriétés optiques : absorption de la lumière (spectrométire) ou fluoresecence (fluorimétrie). La fluorimètrie est plus sensible que la spectrométrie d'au moins d'un ordre de grandeur. Elle est donc souvent utilisée en zone oligotrophe et dans les situations ou l'on ne dispose que de petits échantillons.

La chlorophylle a est un constituant intracellulaire, sa mesure nécessite la récupération des cellules en suspension dans le milieu par filtration. Le matériel cellulaire récolté sur le filtre subi une extraction par solvant. La mesure de l'extrait peut se faire de manière non séparative ou par séparation chromatographique (HPLC).

Les pigments chlorophylliens sont très sensibles à la lumière et au *p*H. En milieu acide, la dégradation de la chlorophylle produit de la phéophytine *a*.

9.5.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

Se référer également au paragraphe C-3.1.2 relatif à l'analyse de la chlorophylle a et des phéopigments dans les eaux naturelles.

■ Principe

La chlorophylle, après extraction de l'eau de mer par filtration et sa solubilisation dans l'acétone à 90 %, présente une absorbance à 664, 647 et 630 nm suivant sa nature *a*, *b* ou *c* .

□ Prélèvements

Prélever les échantillons en flacons de verre ou de polyéthylène de 1 L, les remplir complètement et les boucher en évitant l'entrée d'air. Conserver les prélèvements à 4 °C et à l'obscurité. Effectuer l'analyse dans un délai ne dépassant pas 6 heures après le prélèvement.

Le volume d'échantillon sera fonction de la richesse en phytoplancton et de la méthode de mesure (100 ml à 2 litres en zone côtière). Une pré-filtration de l'échantillon < 150 μm peut s'avérer nécessaire afin d'éliminer les divers débris et le zooplancton qui peut contenir des pigments chlorophylliens après avoir ingéré du phytoplancton.

□ Matériel spécial

– Rampe de filtration sous vide.

– Membrane de filtration en cellulose ou acétate de cellulose (diamètre des pores : 0,45 μm).

– Tubes à centrifuger bouchés de 15 mL.

– Centrifugeuse.

– Spectromètre équipé de cuves de 1 et 10 cm.**Réactifs**

– Acétone à 90 % :

eau déionisée		100 mL
acétone	*q.s.p.*	1 L

Conserver la solution à l'obscurité.

– Suspension de carbonate de magnésium (lg).

Agiter vigoureusement la suspension avant emploi.

Mode opératoire

Utiliser un volume d'eau contenant environ 1 µg de chlorophylle soit de 0,5 à 5 litres. Filtrer sur membrane de cellulose ou acétate de cellulose 0,45 µm. Effectuer de préférence la détermination dès la filtration terminée.

> **Remarque à propos de l'utilisation du carbonate de magnésium**
> Depuis 1966, le document SCOR-Unesco recommandait l'utilisation du carbonate de magnésium pour améliorer la rétention sur les filtres et prévenir de toute acidification avant et pendant l'extraction. Il est désormais déconseillé car il absorbe certains pigments.

Introduire la membrane filtrante dans un tube à centrifuger. Ajouter 15 mL d'acétone à 90 %, agiter 1 minute vigoureusement pour dissoudre le filtre. Placer le tube à l'obscurité et au frais 5 à 10 heures de façon à permettre l'extraction de la chlorophylle, agiter de temps en temps puis centrifuger à 4 000 tr/min pendant 5 minutes. Verser le surnageant dans une cellule de 10 cm. Ajuster au volume initial avec de l'acétone à 90 %.

Effectuer les mesures au spectromètre aux longueurs d'onde de 750, 664, 647 et 630 nm après avoir réglé l'appareil sur la solution d'acétone à 90 %.

Expression des résultats

Soustraire la lecture effectuée à 750 nm des 3 autres mesures. Soit :

E_1 la mesure à 664 nm après correction.

E_2 la mesure à 647 nm après correction.

E_2 la mesure à 630 nm après correction.

Les teneurs en chlorophylle *a*, *b* et *c* sont obtenues à partir des formules suivantes :

$$\text{chlorophylle } a \ (\mu g/L) = (11{,}85\ E_1 - 1{,}54\ E_2 - 0{,}08\ E_3)\ \frac{v}{l \times V_g},$$

$$\text{chlorophylle } b \ (\mu g/L) = (21{,}03\ E_2 - 5{,}43\ E_1 - 2{,}66\ E_3)\ \frac{v}{l \times V_g},$$

$$\text{chlorophylle } c \ (\mu g/L) = (24{,}52\ E_3 - 1{,}67\ E_1 - 7{,}60\ E_2)\ \frac{v}{l \times V_g}.$$

v = Volume d'acétone (mL).

l = Longueur du trajet optique de la cuve (cm).

V_g = Volume d'eau de mer filtrée (L).

> **Remarques**
> – Le rendement d'extraction de certaines chlorophylles *a* (cyanophycées, chlorophycées) par l'acétone est faible, l'usage d'autres solvants (éthanol, méthanol) est alors nécessaire. Mais certains solvants comme le méthanol ne dissolvent pas l'acétate de cellulose. La filtration est alors effectuée sur filtre en fibre de verre, un traitement par ultrasons facilite la dissolution.

– Le volume d'eau de mer est limité par les matières en suspension. En présence de fortes teneurs susceptibles de colmater les filtres 0,45 µm, il est possible d'effectuer une préfiltration sur filtre 0,200 mm permettant d'éliminer les végétaux macroscopiques et les algues filamenteuses. Une filtration sur soie à plancton de 15 à 20 µm permet également de distinguer la fraction microplanctonique de celle nanoplanctonique.

– La limite de sensibilité de la méthode dépend du volume d'eau de mer filtré. Avec 10 L la limite est de 0,02 µg/L.

– Les systèmes eutrophysés, moins riches en chlorophylle *a* que les systèmes oligotrophes peuvent être conservés 8 h avant d'être filtrés.

– Il existe dans le commerce de la chlorophylle *a* étalon sous forme de poudre.

Bibliographie

RICHARDS, THOMPSON (1952). *J. Mar. Res.*, **11**, p. 156.

PARSONS, STRICKLAND (1963). *J. Mar. Res.*, **21**, p. 155.

SCOR-Unesco (1966). Determination of photosynthetic pigments in sea water. Unesco, Paris, France. Unesco Monographs on Oceanographic Methodology, 1, 69p.

SCOR-Unesco-Working group 17 (11 août 1966). Determination of photosynthetic pigments in sea water. *Monogr. oceanogr. Method. Unesco*, **1**.

JEFFREY, HUMPHREY (1975). *Biochem. Physio. Pflanzen*, **167**, p. 191.

LORENZEN, JEFFREY (1980). *UNESCO Technical Papers in Marine Science*, **35**.

S.W. JEFFREY, R.F.C. MANTOURA, S.W. WRIGHT (1997). Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods. Unesco, Paris, France. Monographs on oceanographic methodology. 10, 661 p.

A. AMINOT, R. KÉROUEL (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. XII, Mesure des concentrations en chlorophylle a et en phéopigments par méthodes spectroscopiques.

9.5.2 Méthode par spectrofluorimétrie

En général cette méthode est 5 à 10 fois plus sensible que la méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire mais elle est moins précise.

■ Principe

L'extraction est effectuée dans les mêmes conditions que pour la méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, la mesure est réalisée au spectrofluorimètre.

□ Matériel spécial

– Filtres en fibre de verre.

– Spectrofluorimètre.

□ Prélèvements, réactifs

Se reporter à la méthode de dosage par spectrométrie d'absorption moléculaire (C.9.5.1).

■ Étalonnage

Étalonner la méthode à partir d'une concentration connue de chlorophylle *a* déterminée par spectrométrie d'absorption moléculaire à partir d'une culture en plein développement. Extraire la chlorophylle de 50 mL de culture environ, effectuer la mesure au spectromètre et au spectrofluorimètre en utilisant la sensibilité la plus satisfaisante.

Le facteur F_D pour chaque sensibilité n est :

$$F_{D_n} = \frac{C_a}{R_n}$$

C_a = Concentration équivalente en chlorophylle *a* de l'extrait acétonique en µg/mL.

R_n = Lecture pour la sensibilité *n*.

Diluer l'extrait acétonique avec de l'acétone à 90 %.

■ Mode opératoire

Filtrer 0,1 à 2 L d'eau de mer comme décrit dans la méthode précédente mais en utilisant un filtre en fibre de verre et en dissolvant l'extrait dans 10 mL d'acétone à 90 %. Régler le zéro du spectrofluorimètre avec de l'acétone à 90 %.

■ Expression des résultats

La concentration en chlorophylle *a* en microgrammes par litre est donnée par l'expression :

$$\text{chlorophylle } a \ (\mu g/L) = F_D \times R \times \frac{v}{V}$$

R = Lecture du spectrofluorimètre.

F_D = Facteur pour chaque sensibilité.

v = Volume de l'extrait acétonique (mL).

V = Volume d'eau de mer (L).

Bibliographie

YENTSCH, MENZEL (1963). *Deep Sea Res.*, **10**, p. 221.

HOLM, HANSEN et Coll. (1965). *J. Cons. perm. int. Explor. Mer.*, **30**, p. 3.

LOFTUS, CARPENTER (1971). *J. Mar. Res.*, **29**, p. 319.

BOTO, BUNT (1978). *Analyt. chem.*, **50**, p. 392.

S.W. JEFFREY, R.F.C. MANTOURA, S.W. WRIGHT (1997). Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods. Unesco, Paris, France. Monographs on oceanographic methodology. 10, 661 p.

A. AMINOT, R. KÉROUEL (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. XII, Mesure des concentrations en chlorophylle a et en phéopigments par méthodes spectroscopiques.

9.5.3 Méthode par chromatographie liquide haute performance

Se reporter également au paragraphe C-3.1.1 (eaux naturelles).

■ Principe

Les chlorophylles *a* et *b* après extraction par filtration sur membrane en fibre de verre sont dissoutes dans le méthanol. Leur séparation est obtenue par chromatographie liquide haute performance (CLHP) et leur détection par spectrofluorimétrie.

Prélèvements

Se reporter au dosage des chlorophylles par spectrométrie d'absorption moléculaire (§ C-3.1.1).

Matériel spécial

– Filtre en fibre de verre (diamètre : 5 cm, dimension des pores : 0,45 µm).
– Système de filtration sous vide.
– Bac à ultrasons.
– Microbalance.
– Chromatographe CLHP équipé :
  - d'une pompe à débit constant variant de 0,7 à 2 mL/min,
  - d'un injecteur permettant l'injection de volumes compris entre 50 et 200 µL,
  - d'une colonne opérant en phases inversées,
  - d'un détecteur fluorimétrique équipé d'un monochromateur permettant d'exciter à la longueur d'onde de 427 nm, et d'un filtre pour détecter les longueurs d'onde d'émissions supérieures à 470 nm.

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité suffisante pour une utilisation en CLHP et détection par fluorimétrie.

– Méthanol absolu.
– Hexane.
– Solution mère étalon de chlorophylle *a* à 100 mg/L :

chlorophylle *a*		1 mg
méthanol absolu	*q.s.p.*	10 mL

– Solution mère étalon de chlorophylle *b* à 100 mg/L :

chlorophylle *b*		1 mg
méthanol absolu	*q.s.p.*	10 mL

À -20 °C et à l'obscurité, ces deux solutions se conservent au maximum un mois. Avant chaque utilisation, contrôler par CLHP que les chlorophylles *a* et *b* ne sont pas dégradées.

– Solution de fluoranthène à 300 mg/L (étalon interne) :

fluoranthène		30 mg
hexane	*q.s.p.*	100 mL

À 4 °C et à l'obscurité, cette solution peut se conserver un mois.

Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir des solutions mères de solution étalons de chlorophylle *a* et *b*, préparer des dilutions à 2 mg/L dans le méthanol absolu. Ajouter dans chacune des solutions la même quantité de fluoranthène utilisé comme étalon interne, puis chromatographier comme décrit dans le mode opératoire.

Mode opératoire

Agiter les flacons de prélèvements pour homogénéiser les échantillons. Filtrer sur le filtre en fibre de verre un volume d'échantillon défini par la durée de filtration qui ne doit pas dépasser 10 min en évitant une trop forte dépression. Introduire le filtre dans un bécher contenant 5 mL de méthanol absolu puis placer le bécher 20 min dans un bac à ultrasons, à l'obscurité. Après 10 min d'attente, filtrer l'extrait sur un autre filtre en fibre de verre. Rincer le bécher et

le filtre avec 4 à 5 mL de méthanol absolu utilisés en 3 ou 4 fractions. Réunir le solvant de rinçage à l'extrait (il peut être conservé 24 h à –20 °C). Au volume final de l'extrait (10 mL environ), ajouter une quantité connue d'étalon interne. Injecter la solution ainsi préparée dans le chromatographe.

■ Interprétation des chromatogrammes

Identifier et quantifier les pics en se référant aux chromatogrammes obtenus avec les solutions étalons et l'échantillon.

■ Expression des résultats

Les teneurs en chlorophylle *a* et *b* de l'échantillon sont exprimées en microgrammes par litre.

Méthode de référence

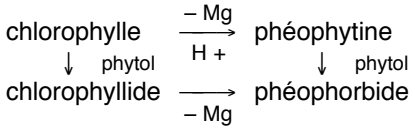
Norme AFNOR T90-116 (Décembre 1984). Dosage des chlorophylles *a* et *b* par chromatographie liquide haute performance (CHLP).

Bibliographie

S. W. Jeffrey, R. F. C. Mantoura, S. W. Wright (1997). Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods. Unesco, Paris, France. Monographs on oceanographic methodology. 10, 661 p.

9.6 Phéophytine

Les produits de dégradation des chlorophylles, en particulier la phéophytine, peuvent constituer une partie importante des pigments verts présents dans l'eau de mer : en effet, des deux voies de dégradation de la chlorophylle, celle conduisant à la phéophytine est prépondérante.



La phéophytine interfère dans la détermination de la chlorophylle car elle absorbe dans la même région du spectre que celle-ci.

9.6.1 Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

■ Principe

La chlorophylle *a* est facilement et rapidement transformée en phéophytine par acidification, ce qui entraîne une diminution de l'absorption alors qu'aucune modification n'intervient pour la phéophytine acidifiée. La différence d'absorbance avant et après acidification permet donc de déterminer la teneur en chlorophylle.

□ Réactifs

– Se reporter au dosage de la chlorophylle (E-9.5.1).

– Acide chlorhydrique *N*.

Mode opératoire

Effectuer la concentration de l'échantillon et extraire comme indiqué pour le dosage de la chlorophylle.

Mesure

Effectuer en cuve de 10 cm les mesures d'absorbance aux longueurs d'onde de 750 et 665 nm. Ajouter 2 gouttes de solution d'acide chlorhydrique *N* dans la cuve, agiter, attendre 6 minutes puis effectuer à nouveau les mesures d'absorbance à 750 et 665 nm.

Expression des résultats

Soustraire les absorbances lues à 750 nm avant et après acidification, soit :

E_1 = Absorbance corrigée avant acidification.

E_2 = Absorbance corrigée après acidification.

Les teneurs en chlorophylle *a* et phéophytine se calculent ainsi :

$$\text{Chlorophylle } a \ (\mu g/L) = \frac{26{,}7\ (E_1 + E_2)}{V_g \times l} \times v$$

$$\text{Phéophytine } (\mu g/L) = \frac{26{,}7\ (1{,}7\ E_2 - E_1)}{V_g \times l} \times v$$

v = Volume d'acétone (mL).

V_g = Volume d'eau filtrée (L).

l = Longueur du trajet optique de la cuve (cm).

26,7 = $A \times K$.

A = Coefficient d'absorption de la chlorophylle = 11.

K = Facteur de compensation de la réduction d'absorbance = 2,43.

1,7 = Rapport maximal des absorbances à 665 nm avant et après acidification pour une concentration initiale en phéophytine nulle.

Remarques

– Pour la précision de la méthode, il est nécessaire dans les calculs de tenir compte des corrections des chlorophylles. En particulier pour les eaux de bacs et de rivières où la présence de chlorophylle *b* peut être importante. Dans les eaux océaniques les chlorophylles *a* et *c* dominent.

– L'utilisation de membranes filtrantes pour l'extraction peut entraîner une augmentation de la turbidité au cours de l'acidification de l'extrait (mesures à 750 nm).

Dans ce cas, la filtration sur fibre de verre est préférable.

Méthode de référence

Norme expérimentale AFNOR T 90-117 (Décembre 1989). Dosage de la chlorophylle *a* et d'un indice phéopigments. Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire.

Bibliographie

C.J. Lorenzen (1967). Determination of chlorophyll and pheo-pigments: Spectrometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, p. 343.

Moss (1967). *Limnol. Oceanogr.*, **12**, p. 335.

Marker (1972). *Freshwat. Biol.*, **2**, p. 361.

Lorenzen, Jeffrey (1980). *UNESCO Technical papers in Marine Science*, **35**.

A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p. Chap. XII, Mesure des concentrations en chlorophylle a et en phéopigments par méthodes spectroscopiques.

S.W. Jeffrey, R.F.C. Mantoura, S.W. Wright (1997). Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods. Unesco, Paris, France. Monographs on oceanographic methodology. 10, 661 p.

9.6.2 Méthode par fluorimétrie

La méthode consiste à mesurer par fluorimétrie l'extrait de chlorophylle *a* avant et après addition d'acide. L'extrait ne doit pas contenir de phéopigments.

■ Prélèvements, principe, matériel spécial, réactifs

Se reporter à la méthode de dosage des chlorophylles par fluorimétrie (E-9.5.2).

– Solution d'acide chlorhydrique à 5 % en volume.

■ Mode opératoire

Procéder comme dans la méthode de dosage des chlorophylles par fluorimétrie à l'exception de l'addition d'acide : 2 gouttes de solution d'acide chlorhydrique à 5 % et de la mesure de cet extrait après acidification.

■ Expression des résultats

La teneur en chlorophylle *a* et en phéopigments, exprimée en microgrammes par litre, est obtenue par les expressions suivantes :

$$\text{chlorophylle } a\ (\mu g/L) = F_D \times 1{,}83\ (R_B - R_A)\ \frac{v}{V}$$

$$\text{phéopigments } (\mu g/L) = F_D \times 1{,}83\ (2{,}2\ R_A - R_B)\ \frac{v}{V}$$

F_D, v et V sont définis dans la méthode de dosage des chlorophylles par fluorimétrie.

R_B et R_A = Mesure de la fluorescence avant et après acidification.

Remarques

– La précision de la méthode est diminuée par la présence des autres chlorophylles. Les quantités des phéopigments inférieures à 10 % à celle de la chlorophylle *a* sont à interpréter avec précaution.

– Si le rapport $\frac{R_A}{R_B}$ a été mesuré avec un matériel différent de celui décrit, les facteurs numériques des équations deviennent:

$$\left[\left(\frac{RB}{RA}\right)\left(\frac{RB}{RA}-1\right)\right]^{-1} \text{ en remplacement de 1,83}$$

et pour la deuxième équation :

$$\frac{R_B}{R_A} \text{ en remplacement de 2,2.}$$

Bibliographie

Holm-Hansen *et al.* (1965). *J. Cons. perm. int. Explor. Mer.*, **30**, p. 3.

10 • LA MESURE DES MATIÈRES INHIBITRICES (MI) EN EAU DE MER

10.1 Notion d'écotoxicité ou l'effet des produits

L'écotoxicité est l'étude de l'effet des produits chimiques sur l'environnement.

On distingue les études mono spécifiques (en général en laboratoire) des études pluridisciplinaires (en laboratoire et/ou sur le terrain).

La notion d'écotoxicité recoupe l'approche et l'analyse des effets des produits et, par suite, d'évaluer les risques que représentent pour les espèces vivantes les impacts et modifications sur le milieu naturel, qu'il soit terrestre ou aquatique.

Les systèmes de biologiques de référence, utilisés en écotoxicologie, sont des organismes qui vivent dans notre environnement normal (voir quelques exemples au paragraphe C-4.1).

10.2 Les bio-essais : Principe

Les essais de toxicité sont des tests en laboratoire au cours desquels une population d'organismes aquatiques est exposée à un polluant dont on veut estimer la toxicité afin d'évaluer les niveaux de concentration provoquant des effets toxiques (mortalité, baisse de reproduction, baisse de respiration…).

Ces tests sont menés dans des conditions contrôlées de lumière, température, milieu de culture ou support d'élevage.

L'accent est mis sur la standardisation et la reproductibilité des mesures réalisées, de manière à obtenir une information fiable sur le phénomène de toxicité.

Pour autant, les multiples facteurs influençant en milieu naturel ne sont pas pris en compte, ce qui ne permet pas une extrapolation directe à l'échelle des écosystèmes.

Ce type d'outils permet d'évaluer le danger lié à une substance toxique. En ce sens, ils ont un rôle préventif dans la gestion des risques.

10.3 Détermination de l'écotoxicité des produits et des eaux

La toxicité aiguë se détermine par le principe opérationnel général suivant :

– l'organisme vivant est mis en présence avec le produit à différentes concentrations,

– l'observation des effets induits est réalisée sur 24 ou 48 heures : mort ou inhibition à chaque concentration,

– il est déterminé la concentration qui agit sur 50 % des organismes mis en jeu. On parle de CE 50 (Concentration Efficace) ou de CL 50 (Concentration Létale).

On peut ainsi comparer les produits et les classer d'après les valeurs de CE 50.

La mesure de la toxicité à long terme, ou toxicité chronique à dose sublétale, vise à étudier l'action des produits sur les mécanismes vitaux des organismes d'étude (par exemple la reproduction).

Un produit toxique peut toucher les organismes aquatiques de deux manières :

– soit par contamination directe (absorption ou adsorption),

– soit par contamination indirecte. Dans ce cas, on peut avoir un phénomène de bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire.

Si donc l'on se réfère à une échelle de temps et d'effets, on peut distinguer plusieurs toxicités :

– la toxicité aiguë dont les effets à court terme apparaissent à exposition de durée brève ;

– la toxicité à moyen et long terme qui apparaît pour des expositions de longue durée à des concentrations faibles.

La toxicité aquatique s'exprime par la CL 50/24 h.

La CL 50/24 h d'un produit est la concentration qui provoque la mortalité de la moitié des individus testés au bout d'un délai de 24 h.

Certaines législations nationales (Code de l'environnement en France par exemple) imposent la mesure **des matières inhibitrices**.

Cette mesure est une mesure de toxicité aiguë dont l'unité est l'Equitox.

$$\text{Equitox} = 1/(\text{CL } 50/24 \text{ h})$$

Ainsi peut être déterminée la toxicité d'un échantillon d'eau.

Pour les eaux douces, cette toxicité est généralement évaluée à l'aide d'un test « daphnie » selon la norme française T 90-301 qui consiste à déterminer la dilution qu'il faut appliquer à un échantillon d'eau pour inhiber après 24 h 50 % des daphnies (*Daphnia magna*) mises en contact avec le produit.

10.4 Application aux échantillons d'eau de mer

La toxicité d'un échantillon d'eau de mer vis-à-vis des organismes vivants peut être approchée de la même manière que pour les eaux douces (§ C-4).

10.5 Le test « daphnie »

Tel que décrit pour les eaux douces (§ C-4.5), ce test est parfois utilisé pour évaluer la toxicité des échantillons d'eau de mer (tout en rappelant que la Daphnie est un animal qui vit en eau douce, et que le test a été mis au point pour ces eaux).

Toutefois les échantillons marins doivent préalablement être adaptés au test :

– décantation minimale pendant 2 h (conseillée pour éliminer les particules en suspension) ;

– congélation préalable de l'échantillon (pour éliminer les organismes vivants) ;

– élimination du sel par micro filtration (pour rendre l'échantillon compatible avec la daphnie).

Il faut bien entendu pendant toute la durée du test vérifier dans l'échantillon la teneur en oxygène dissous qui doit rester compatible avec la survie des animaux tests.

■ Champs d'application

Le test daphnie est applicable pour déterminer la toxicité aiguë vis-à-vis de *Daphnia magna* des substances chimiques solubles ou pouvant être maintenues en suspension ou en dispersion stable dans les conditions d'essai, des effluents industriels et urbains épurés ou non et des eaux de surface ou souterraines naturelles.

■ Principe

Détermination de la concentration qui en 24 h (ou 48 heures) immobilise 50 % de Daphnia magna mises en expérimentation.

Cette concentration, dite concentration efficace inhibitrice, est désignée par CE50i-24 h (ou CE50-48 h).

■ Protocole de test

Les tests doivent être réalisés en condition de lumière maîtrisée, soit en obscurité, soit sur un cycle jour/nuit de 16 h/8 h et à une température maintenue à 20 °C±2 °C. Les daphnies utilisées pour l'essai doivent être âgées de moins de 24 h et provenir d'un élevage aux conditions bien définies.

Les solutions testées (substances chimiques, effluents ou eaux naturelles) sont versées selon des volumes croissants dans une série de récipients et

complétées avec une eau de dilution dont la composition est définie par la norme, de manière à obtenir les concentrations souhaitées pour l'essai.

Les daphnies sont placées, sans dépasser plus de 20 individus par récipient, ni 5 daphnies pour 10 ml de solution.

Les animaux ne sont pas nourris durant l'essai.

Après 24 h (ou 48 heures), les daphnies encore mobiles sont dénombrées. Pour chaque concentration, un pourcentage d'immobilité est calculé. La CE50i-24 h (ou CE50i-48 h) est ensuite calculée par une méthode statistique appropriée.

Au final ce test « daphnie » ne donne pas sur des échantillons marins des résultats très convaincants, et doit être employé avec prudence.

10.6 Le test « artémia »

L'artémia (*Artemia salina*), est un crustacé marin facile à élever à partir de ses œufs qui sont largement commercialisés.

Ce test est donc plus adapté et plus utilisé que le précédent, et permet une bonne approche de la mesure de la toxicité aiguë d'un échantillon d'eau de mer, tout en gardant un protocole identique.

Les conditions générales sont décrites dans l'article : Proposal for a short term toxicity test with *Artemia salina*. Vanhaecke P. & Al. – Ecotoxicol. Environ. Saf. 1981 Sep. 5 (3) : 382-7 :

– durée du test : 24 h à 25 °C +/- 1 °C ;
– salinité de l'échantillon 37,3 g/l ;
– espèce utilisée : *Artemia salina* au stade nauplii II.

10.7 Le test sur des bactéries luminescentes

Le test le plus utilisé est basé sur l'inhibition de la luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* en présence d'un toxique. Ce principe est utilisé par différents appareillages commercialisés pour une détermination rapide (Microtox par exemple).

Se reporter aux paragraphes C-4.3 et C-5.1.2.

■ Champs d'application

Le test sur bactéries luminescentes est applicable pour déterminer l'inhibition de luminescence en présence d'eaux usées, d'extraits et lixiviats aqueux, d'eaux douces, salées ou saumâtres et d'eaux interstitielles.

■ Principe

Détermination d'un effet inhibiteur de l'échantillon d'eau, sur des lots de cultures de bactéries luminescentes.

Cet effet inhibiteur peut être déterminé sous forme des valeurs de DMSE (dilution minimale sans effet) ou des valeurs de CE20 et/ou CE50 (valeur

de dilution provoquant une diminution de luminescence de 20 % ou 50 % par rapport au témoin).

Protocole de test

Les souches de bactéries utilisées appartiennent à l'espèce *Vibrio fischeri* et peuvent être utilisées fraîches (partie 1 de la norme), déshydratées (partie 2) ou lyophilisées (partie 3).

Des séries de dilutions sont préparées, mélangeant l'eau testée, l'eau de dilution et la suspension de bactéries.

La mise en contact est de 15 minutes, à la suite de quoi la luminescence est mesurée par un luminomètre.

Après application d'un facteur de correction calé sur les témoins, les valeurs de CE sont déterminées.

10.8 Autres indicateurs biologiques

De manière moins pratique d'autres espèces animales marines peuvent être utilisées pour ces tests de toxicités.

Il s'agit de larves d'oursins (*Paracentrotus lividus*), des larves d'huîtres (*Crassostrea gigas*), de larves de moules (*Mytillus edulis),* ou encore d'algues marines *(Skeletoneme costatum, Macrocystis pyrifere)*, de copépodes marins , de macrocrustacés *(Pelacmonetea verians)* ou de poisson tel que le bar *(Dicentrarchus labrax)..*

Bibliographie

E. His, I. Heyvang, O. Geffard, X. de Montaudouin (1999). A Comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus liviuds*) larval bioassays for toxicological studies, *Water Research,*33 (7) : 1706-1718.

10.9 Bio-essais *in situ*

Les bio-essais réalisés en laboratoire ne peuvent pas donner une mesure exacte de la toxicité d'un sédiment ou d'une eau. En plus des modifications physico-chimiques des échantillons lors de leur prélèvement, stockage et manipulation, les tests en laboratoire ne reflètent pas complètement les conditions du milieu naturel (température, salinité, lumière, turbidité, oxygène) qui modifient la spéciation, la biodisponibilité et la toxicité des contaminants.

Certaines études (Qualité biologique de l'eau de mer évaluée *in situ* par le test embryo-larvaire de *Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis* – O. Geffard, E. His, H. Budzinski, MNL. Seaman, P. Garrigues in C. R. Acad. Sc. Paris 2002) montrent la possibilité de réaliser un test embryo-larvaire *in situ* pour étudier la qualité biologique des eaux naturelles et ceci pour toutes les périodes de l'année.

F

Analyse d’un dépôt et d’un sédiment

1 • ANALYSE D'UN DÉPÔT

Les dépôts provenant de canalisations ou de bassins sont fréquemment soumis à l'analyse. Ce chapitre donne quelques lignes directrices permettant l'identification rapide des constituants afin d'en préciser l'origine.

Un examen préalable à la loupe binoculaire ou au microscope donne souvent des informations utiles pour déterminer la nature du dépôt (débris organiques, matières végétales, sels cristallisés, etc.). Après cet examen préliminaire, une quantité représentative d'échantillon est séchée et pulvérisée.

En fonction des outils analytiques disponibles et de la nature du dépôt, la caractérisation sera plus ou moins poussée.

Une analyse par diffraction de rayons X (DRX) permettra d'identifier les éléments majeurs et de déterminer la forme sous laquelle sont cristallisés les composés minéraux (calcite, silice, quartz…).

Une analyse par microscope électronique à balayage (MEB) couplée à un détecteur de fluorescence permet la détection des éléments chimiques de $Z \geq 5$ (dosage possible des éléments à partir du carbone).

Une analyse par spectrométrie infrarouge effectuée après pastillage d'une faible quantité de dépôt sec dans du KBr, permettra parfois de mettre en évidence des bandes d'absorption caractéristiques de composés organiques.

1.1 Évaluation de la matière organique

La teneur en matière organique est évaluée par la perte de masse de 1 g d'échantillon sec après chauffage à 525 °C (se reporter à la détermination de la perte au feu pour les sédiments au paragraphe F-2.2.1).

1.2 Recherche et dosage des cations

■ Principe

Après fusion alcaline, le résidu est repris par l'acide chlorhydrique : Ca, Mg, K, Na, Al, Fe, Mn, Cu, Zn, Ti, Co, Ni, Mo, Cd, Cr, etc. sont déterminés dans la solution.

□ Matériel spécial

– Creuset en graphite.

– Four électrique à 1 100 °C.

☐ **Réactifs**

– Métaborate de lithium.
– Acide borique.
– Carbonate de lithium.
– Acide chlorhydrique 6 *N*.
– Solution de chlorure de lanthane :

chlorure de lanthane		88 g
acide chlorhydrique (1,5 *N*)	*q.s.p.*	1 litre

■ Mode opératoire

Fusion alcaline

Chauffer 1 heure à 1 000 °C environ 1 g d'échantillon séché et pulvérisé, dont on introduit 0,1 g dans un creuset en graphite. Ajouter 0,5 g de métaborate de lithium ou à défaut 0,25 g de carbonate de lithium et 0,25 g d'acide borique, homogénéiser. Effectuer la fusion en plaçant le creuset 20 minutes dans un four à 1 050 °C.

Reprise du produit de fusion

Sortir très rapidement le creuset du four, verser la perle dans un bécher contenant un barreau aimanté, puis ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique 6 *N*, 20 mL d'eau déionisée, 20 mL de solution de chlorure de lanthane. Mettre le bécher sur un agitateur magnétique jusqu'à dissolution complète de la perle. Verser le contenu du bécher dans une fiole jaugée de 50 mL. Compléter le volume avec de l'eau déionisée.

Dosage des cations

Déterminer les éléments précités avec l'une des méthodes décrites pour les eaux naturelles.

1.3 Recherche et dosage des anions

Dosage des carbonates et des hydrogénocarbonates

Pour la recherche et le dosage des carbonates et bicarbonates, une partie aliquote du prélèvement séché et pulvérisé est introduite dans un appareil de Van Slyke modifié, permettant d'accepter directement des échantillons sous forme de poudre. Le dosage des carbonates se fait par mesure du volume de dioxyde de carbone dégagé en milieu acide.

Remarques

– Sur le plan analytique, les matières en suspension peuvent être assimilées à un dépôt constitué de fines particules. Dans ce cas pour l'analyse des cations, filtrer le liquide sur membrane filtrante cellulosique 0,45 µm. Placer ensuite la membrane filtrante dans un bécher, ajouter 3 mL d'acide nitrique, chauffer et renouveler les additions d'acide nitrique jusqu'à minéralisation complète de la membrane. Ajouter ensuite 5 mL d'acide chlorhydrique dilué au demi, chauffer puis filtrer pour éliminer les silicates. Transvaser le filtrat dans une fiole jaugée de 100 mL, ajuster le volume avec de l'eau déionisée et poursuivre l'analyse comme ci-dessus.

– Le dosage de la silice se fait directement sur le résidu de la fusion alcaline (se reporter au dosage de la silice dans les eaux naturelles au § A-7.4.6).

2 • ANALYSE D'UN SÉDIMENT

En dehors des matières dissoutes, les eaux superficielles contiennent plus particulièrement des particules en suspension. Ces particules, dont la taille varie de quelques dizaines de nanomètres à quelques centaines de µm, sont constituées d'éléments minéraux et organiques en provenance des sols ou des résidus d'activité humaine.

Ces particules sont susceptibles d'adsorber une grande variété de substances y compris des toxiques ainsi que des éléments microbiens. Ces matières en suspension à caractère amorphe ou cristallin peuvent être composées d'argiles, d'oxydes et d'hydroxydes de fer ou d'aluminium, de quartz, de carbonates, de grès, etc., ainsi que de matières organiques plus ou moins dégradées d'origine animale ou végétale. Tous ces éléments particulaires en provenance du lessivage ou de l'érosion des sols sont transportés par l'eau jusqu'à ce qu'ils se déposent par sédimentation. Il est bien connu que la concentration des polluants est plus élevée dans les sédiments des cours d'eau, des lacs, des barrages, de la mer que dans l'eau elle-même. Suivant les conditions du milieu, ces sédiments qui ont pu servir de véhicules pour le transport des composés toxiques peuvent les relâcher dans l'environnement et contribuer ainsi à des phénomènes de reconcentration.

Les matières humiques (acides fulvique et humique) qui enrobent très souvent les éléments minéraux contribuent à la fixation et à l'adsorption des polluants en constituant des complexes dont la capacité d'échange est importante. Il existe de nombreuses techniques permettant l'étude des sédiments telles que la diffraction de rayons X, la spectroscopie infrarouge, la microscopie électronique, etc. Le matériel n'étant généralement pas à la disposition de laboratoires de contrôle, nous n'aborderons ici que les méthodes chimiques et physico-chimiques habituelles.

2.1 Préparation de l'échantillon

☐ **Matériel spécial**

– Tamis de 2 mm.

– Cristallisoir.

■ Mode opératoire

Faire passer la totalité de l'échantillon par petites quantités sur le tamis pour éliminer les fractions les plus grossières (cailloux, débris végétaux). Recueillir le sédiment dans un cristallisoir.

2.2 Examens physico-chimiques

2.2.1 Détermination de l'humidité et de la perte au feu

☐ **Matériel spécial**

- Capsule à fond plat de 200 mL environ.
- Étuve à 105 °C.
- Four à moufle à 525 °C.

■ Mode opératoire

Placer dans une capsule tarée M la moitié du prélèvement passé sur tamis. Soit M_1 la masse en gramme. Sécher le sédiment en plaçant la capsule dans une étuve réglée à 105 °C. Laisser la capsule à l'étuve jusqu'à obtention d'une masse constante. Soit M_2. Le pourcentage d'humidité est obtenu à partir de la relation suivante :

$$\text{Humidité (g \%)} = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{M_1 - M}$$

Placer ensuite la capsule dans un four, monter la température jusqu'à 525 °C, laisser la capsule 4 heures. Peser après refroidissement de la capsule au dessiccateur. Soit M_3. Recommencer jusqu'à obtention d'une masse constante :

$$\text{Perte au feu} = \frac{(M_2 - M_3) \times 100}{M_2 - M}$$

2.2.2 Détermination de la densité réelle

■ Principe

La mesure de la densité réelle des sédiments s'effectue à l'aide d'un flacon à densité (pycnomètre).

☐ **Matériel spécial**

- Pycnomètre de 100 mL.
- Dessiccateur.
- Trompe à vide.

■ Mode opératoire

Effectuer la mesure sur des sédiments séchés à l'air. Introduire 10 g de sédiments secs dans le flacon à densité, le remplir à moitié d'eau déionisée. Agiter, placer le flacon dans un dessiccateur, faire le vide au moyen d'une trompe à vide pendant 30 minutes. Laisser reposer une nuit.

Le lendemain, remplir le flacon d'eau déionisée, mettre le bouchon et ajuster le volume jusqu'au repère à l'aide d'un papier filtre ou d'une seringue équipée d'une aiguille. Peser rapidement le flacon, soit M(g).

Vider le flacon à densité, puis effectuer une pesée après l'avoir rempli d'eau déionisée, soit m(g).

Expression des résultats

La densité réelle des sédiments est obtenue à partir de l'expression :

$$\frac{\text{Masse des sédiments secs}}{\text{Volume des sédiments}} \text{ soit } \frac{10}{(m + 10) - M}$$

Remarque

Il est important que l'eau déionisée utilisée au cours des deux pesées soit à la même température.

2.2.3 Détermination de la fraction inférieure à 50 µm

Principe

La séparation des fractions pelitiques (limon, argiles) des fractions grossières (sable, gravier) est obtenue par passage de l'échantillon sur un tamis de 50 µm.

Matériel spécial

- Étuve à 105 °C.
- Tamis de 50 µm.

Mode opératoire

Peser dans un bécher 10 g d'échantillon séché au préalable à 105 °C. Recouvrir le prélèvement d'eau, laisser en contact 24 à 48 heures. Verser le contenu du bécher sur le tamis et effectuer le tamisage par voie humide. Rincer le refus du tamis jusqu'à ce que l'eau récupérée sous le tamis soit limpide.

Recueillir le refus du tamis dans une capsule préalablement tarée (soit p). Placer la capsule à l'étuve à 105 °C pendant 24 heures. Laisser refroidir au dessiccateur puis peser (soit P).

Expression des résultats

La fraction inférieure à 50 µm, exprimée en pourcentage massique, est calculée à partir de l'expression suivante :

$$f\,\% = \frac{10 - (P - p) \times 100}{10}$$

2.2.4 Détermination du *p*H

Peser 20 g de sédiment sec dans un bécher en plastique de 100 mL, ajouter 50 mL d'eau et agiter 2 min sur agitateur magnétique. Laisser décanter 30 min au moins, mesurer le *p*H du surnageant par la méthode potentiométrique décrite dans l'analyse des eaux naturelles (§ A-5.3.2).

2.3 Dosages particuliers

2.3.1 Dosage de l'anhydride carbonique total

Dans un bécher en polyéthylène, peser 1 g de sédiment finement pulvérisé. Le mettre en suspension dans 10 mL d'eau déionisée et agiter 5 min sur un agitateur magnétique.

Introduire la suspension dans la chambre à réaction d'un appareil de Van Slyke, rincer le bécher avec quelques mL d'eau déionisée. Effectuer le dosage comme indiqué pour les eaux naturelles (§ A-4.4).

2.3.2 Dosage des éléments traces métalliques mobilisables (Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Pb, As, Cd, Se)

■ Principe

La détermination de Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Pb, As, Cd et Se est effectuée par l'une des méthodes décrites dans l'analyse des eaux naturelles (§ A-7), après destruction de la matière organique obtenue par traitement de l'échantillon à 450 °C en présence de nitrate d'ammonium.

□ **Matériel spécial**

- Étuve à 110 °C.
- Four à moufle électrique en silice de préférence.
- Capsules de platine ou à défaut de silice.

□ **Réactifs**

- Solution de nitrate d'ammonium à 100 g/L.
- Acide chlorhydrique (d = 1,19).
- Solution d'acide chlorhydrique 2 *N*.
- Acide nitrique (d = 1,38).

■ Mode opératoire

Introduire 1 à 2 g de sédiment dans une capsule de platine, ajouter la solution de nitrate d'ammonium à raison de 2 mL par gramme de sédiment. Mélanger et sécher dans une étuve à 110 °C. Placer la capsule dans le four froid, chauffer progressivement pour atteindre 450 °C. Maintenir cette température pendant 2 heures. Retirer la capsule du four et la laisser refroidir.

Transférer le résidu dans un bécher de 100 à 150 mL en le reprenant par quelques mL d'eau déionisée. Rincer la capsule deux fois avec 5 mL d'acide chlorhydrique concentré chaud, puis deux fois avec environ 5 mL d'eau déionisée bouillante, les joindre au contenu du bécher.

Ajouter 5 mL d'acide nitrique, couvrir le bécher d'un verre de montre et porter à douce ébullition pendant une dizaine de minutes, évaporer à sec ensuite.

Reprendre le résidu par 20 mL d'acide chlorhydrique 2 *N*, chauffer jusqu'à ébullition, puis filtrer sur papier filtre sans cendres. Recueillir le filtrat dans une fiole jaugée de 100 mL. Rincer le bécher et le filtre avec successivement 10 mL de solution d'acide chlorhydrique 2 *N* et deux ou trois fois avec de l'eau déionisée bouillante. Laisser refroidir la solution, ajuster le volume. Effectuer

le dosage des éléments en utilisant l'une des méthodes décrites au chapitre des éléments considérés comme toxiques ou indésirables dans les eaux naturelles.

Remarques

– Opérer sous hotte équipée d'un laveur pour piéger les vapeurs acides, et porter les équipements de protection individuelle (gants, lunettes, blouse).

– Si la minéralisation a été effectuée dans une capsule de silice, il est inutile de transférer l'échantillon dans un bécher, effectuer la reprise directement dans la capsule.

– Il n'a pas été établi de façon certaine que cette méthode permette de retrouver quantitativement le cadmium et le sélénium. Le plomb et l'arsenic sont retrouvés en totalité.

2.3.3 Détermination du pourcentage d'insolubles

■ Principe

L'attaque chlorhydrique nitrique effectuée pour obtenir la solubilisation des éléments traces métalliques mobilisables (cf. § F-2.3.2) ne permet pas celle du quartz et des feldspaths qui sont déterminés par pesée après filtration de la solution.

□ Matériel spécial

– Four à 900 °C.

– Filtre rapide sans cendres résistant aux solutions acides chaudes.

■ Mode opératoire

Récupérer le résidu sec recueilli sur papier filtre sans cendres après l'attaque chlorhydrique nitrique appliquée pour solubiliser les éléments traces métalliques (cf. § F-2.3.2 - Mode opératoire) par de l'acide nitrique normal. Le chauffer à 850 °C dans une capsule tarée *p(g)*. Peser la capsule après refroidissement dans un dessiccateur, soit *P*(g).

■ Expression des résultats

Le pourcentage d'insoluble dans les acides chlorhydrique et nitrique correspondant à la silice est donné par l'expression :

$$\text{insoluble \% massique} : \frac{(P - p) \times 100}{X}$$

X = Masse de prélèvement en g.

2.3.4 Dosage du mercure

□ Matériel spécial

– Enceinte thermostatée réglée à 60 °C.

□ Réactifs

– Acide nitrique concentré, pour analyse de traces.

– Acide sulfurique concentré, pour analyse de traces.

– Permanganate de potassium pur, pour analyses.

– Persulfate de potassium pur, pour analyses.

– Solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 3,5 %.

– Réactifs nécessaires à la détermination du mercure (se reporter au dosage du mercure par spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme dans les eaux naturelles : § A-7.35).

■ Mode opératoire

Introduire 1 g de sédiment humide dans une fiole conique de 100 mL, ajouter avec précaution 5 mL d'acide nitrique, 5 mL d'acide sulfurique, 0,5 g de persulfate de potassium et 0,5 g de permanganate de potassium. Placer la fiole dans une enceinte réglée à 95 °C pendant 2 heures. Ajouter ensuite 85 mL d'eau déionisée, agiter, porter à ébullition 1 min. Refroidir puis verser 5 mL de solution d'hydroxylamine, ajuster le volume à 100 mL. Effectuer le dosage sur une aliquote de cette solution en utilisant la méthode par spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme.

2.3.5 Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB)

■ Principe

L'extraction du sédiment lyophilisé est réalisée par un mélange acétone/hexane au moyen, par exemple, d'un extracteur de soxhlet.

Après concentration et application des méthodes de purification nécessaires, l'extrait est analysé par chromatographie.

Les limites de quantification sont comprises entre 0,025 et 0,05 mg/kg de sédiment sec selon la substance.

□ Matériel particulier

– Balance de précision.

– Lyophilisateur.

– Tube extracteur de soxhlet : tube de 125 mL, muni d'un ballon de 250 mL et d'un condensateur approprié.

– Évaporateur rotatif sous vide ou tout système d'évaporation approprié.

□ Réactifs

Tous les réactifs doivent présenter un degré de pureté analytique reconnu. La pureté des réactifs utilisés doit être vérifiée en procédant à un essai à blanc.

– Hexane.

– Acétone.

– Ether de pétrole.

– Silicte de magnésium (nom commercial : Florisil) – granulométrie comprise entre 150 et 250 µm – activé par chauffage à 550 °C pendant 2 heures.

– Sulfate de sodium anhydre.

– Eau, qualité ultra-pure.

– Cuivre en lamelles préalablement activé à l'acide nitrique dilué (5 % v/v) puis rincé à l'eau puis à l'acétone et séché.

Mode opératoire

Procéder à la déshydratation par lyophilisation de l'échantillon.

Monter l'extracteur de soxhlet sous une hotte d'aspiration avec :

– 2,5 g d'échantillon lyophilisé dans la cartouche ;

– 200 mL de solvant d'extraction constitué d'acétone/hexane (50/50) dans le ballon (ajouter quelques granules d'un régulateur d'ébullition).

Lancer le chauffage de façon à extraire pendant 8 heures et entre 4 à 6 cycles par heure.

Remarques

– Le minimum de luminosité doit être assurée lors de l'extraction.

– L'échantillon peut être additionné d'un étalon interne (témoin de l'extraction).

Lorsque l'extrait est refroidi, il est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à vide puis est séché 30 minutes sur sulfate de sodium anhydre ; le volume final est ajusté à 50 mL.

Purifier éventuellement l'extrait.

PURIFICATION DES PCB

1. Préparer la colonne de purification (ø 2 cm) comme suit :

0,5 cm de Na_2SO_4	→	/////////
10 g de Florisil préalablement passé au four une nuit à 500 °C	→	
0,5 cm de Na_2SO_4	→	/////////

Rincer la colonne, goutte à goutte, par 20 mL d'acétone puis par 30 mL d'éther de pétrole et jeter.

Attention : la colonne doit toujours être sous solvant : arrêter les élutions quand le niveau du solvant arrive au niveau de la couche supérieure de Na_2SO_4.

2. Purifier comme suit :

– Déposer l'extrait (≈ 1 mL) et l'éther de pétrole de rinçage du tube et faire pénétrer dans la couche de Na_2SO_4.

– Déposer 100 mL d'éther de pétrole et éluer goutte à goutte en recueillant l'éluat dans un ballon.

– Concentrer le contenu du ballon sous vide et le transvaser dans un tube à vis.

– Ajouter 2 g de cuivre pré traité et agiter au « top mix » 15 min.

– Transvaser dans un autre tube et y adjoindre l'éther de pétrole de rinçage.

– Concentrer sous courant d'azote précisément à 1 mL (des étalons internes peuvent être additionnés).

Purification des HAP

1. Préparer la colonne de purification (ø 1 cm) comme suit :

– Placer dans la colonne :

- un coton de laine de verre,
- 1,5 g d'oxyde d'aluminium basique préalablement traité 2 heures à 500 °C et désactivé par 6 % d'eau ultra-pure après contact 1 nuit,
- 0,5 cm de Na_2SO_4 anhydre.

– Rincer la colonne par 20 mL d'hexane en éluant goutte à goutte.

2. Purifier comme suit :

– Déposer l'extrait (2 mL concentrés à ≈ 1 mL) et l'hexane de rinçage du tube et faire pénétrer dans la couche de Na_2SO_4.

– Déposer 50 mL d'hexane et éluer goutte à goutte en recueillant l'éluat dans un ballon.

– Concentrer le contenu du ballon sous vide et le transvaser dans un tube à vis.

– Concentrer sous courant d'azote à sec et ajouter précisément 1 mL de méthanol pour un dosage en CLHP/spectrofluorimétrie.

Les analyses sont effectuées par chromatographie selon les modalités appliquées pour les eaux :

– chromatographie liquide haute pression (CLHP) munie d'un détecteur spectrofluorimétrique éventuellement programmable en longueur d'onde pour le dosage des HAP ;

– ou chromatographie en phase gazeuse (CPG) munie d'un détecteur à capture d'électrons (DCE) pour le dosage des PCB ;

– ou chromatographie en phase gazeuse (CPG) munie d'un spectromètre de masse (SM) pour le dosage simultané des HAP et des PCB.

2.3.6 Dosage des résidus d'hydrocarbures

La méthode décrite est applicable aux sols comme aux sédiments.

Il s'agit d'une méthode pour le dosage quantitatif des huiles minérales (hydrocarbures) dans les sols ou sédiments bruts prélevés in situ au moyen d'une chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode est applicable à des sols ou sédiments dont la teneur en huiles minérales est comprise entre 50 mg/kg et 2 500 mg/kg.

Dans la présente méthode, on entend par huile minérale tous les hydrocarbures ayant un domaine d'ébullition compris entre 175 et 525 °C, les n-alcanes compris entre le n-décane (C10) et le n-tétracontane (C40), les isoalcanes, les cycloalcanes, les alkylbenzènes, les alkyl naphtalènes et les composés aromatiques polycycliques. Les essences contenant des composés inférieurs à C10 ne sont pas dosés.

Principe

Une quantité connue d'un échantillon homogénéisé est extraite par agitation mécanique à l'aide d'acétone/n-hexane. Après addition d'eau, la phase organique est séparée. Les composés polaires sont éliminés par adsorption sur du florisil. Une partie aliquote de l'extrait purifié est analysée par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire puis détection par ionisation de flamme. L'aire totale des pics est mesurée dans la plage séparant les étalons n- décane (C10) et n-tétracontane (C40). La teneur en huiles minérales de l'échantillon est quantifiée par rapport à un étalon externe composé en quantités égales de deux types différents d'huiles minérales.

Méthodologie

Réactifs

Tous les réactifs doivent présenter un degré de pureté analytique reconnu. La pureté des réactifs utilisés doit être vérifiée en procédant à un essai à blanc.

– Hexane.

– Sulfate de sodium anhydre.

– Acétone.

– Silicate de magnésium de granulométrie comprise entre 150 μm à 250 μm ; nom commercial : FLORISIL ; produit activé par chauffage à 550 °C pendant 2 heures.

– Mélange étalon de n-alcanes (pour essai de performance du système) :

Dissoudre les 6 n-alcanes : n-décane C_{10}, n-hexadécane C_{16}, n-eicosane C_{20}, n-tétracosane C_{24}, n- octacosane C_{28}, n-tétracontane C_{40} dans de l'hexane afin de préparer une solution à 100 mg/L des composés individuels. Conserver le mélange étalon hermétiquement fermé dans un réfrigérateur.

– Solvant d'extraction avec composés de référence (C10 et C40) :

Dissoudre 20 mg de n-tétracontane et 20 mg de n-décane dans l'hexane et compléter à 200 mL (chaque alcane est à 100 mg/L). Conserver la solution hermétiquement fermée dans un réfrigérateur. Elle reste stable pendant six mois au maximum.

– Mélange étalon d'huiles minérales :

Le mélange utilisé est constitué de gasoil/huile minérale (1/1).

– Mélange d'étalonnage :

Préparer au moins 6 solutions d'étalonnage différentes en diluant le mélange étalon d'huiles minérales avec la solution mère du solvant d'extraction à 100 mg/L en C10 et C40 : 0 (blanc) – 0,15 g/L – 0,30 g/L – 0,6 g/L – 1,2 g/L – 2,5 g/L – 5 g/L à titre d'exemple. Conserver les solutions hermétiquement fermées dans un réfrigérateur. Elles restent stables pendant un an au maximum.

– Solution d'essai de stéarate de stéaryle ($C_{37}H_{72}O_2$) (permet de vérifier l'efficacité de la procédure de purification) :

Dissoudre 200 mg de stéarate de stéaryle dans 100 mL de solution mère du solvant d'extraction à 100 mg/L en C10 et C40. Stocker la solution hermétiquement fermée dans un réfrigérateur, elle reste stable pendant six mois.

– Sol de référence.

Matériels et équipements

Matériel courant de laboratoire et :

– Chromatographe en phase gazeuse :

Il est équipé d'un injecteur « on column », d'une colonne semi capillaire apolaire par exemple greffée 100 % diméthylpolysiloxane (longueur = 15 m, diamètre intérieur = 0,53 mm, épaisseur de film = 0,15 μm), d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

– Agitateur mécanique à retournement.
– Agitateur vibrant « top mix ».
– Ampoules à décanter (250 mL) et agitateur spécifique (type Agitelec).
– Flacons de 250 mL en verre type « Shott Duran ».
– Tubes de 15 mL bouchage à vis et joint téflonné.

Échantillonnage et conservation des échantillons

Les échantillons sont prélevés dans des bocaux en verre (une feuille d'aluminium sépare l'échantillon du joint du couvercle) puis conservés à l'abri de la lumière et au frais.

L'analyse doit être effectuée le plus tôt possible.

Lavage verrerie et essai à blanc

Avant utilisation, toute la verrerie doit avoir été soigneusement lavée.

À chaque série d'échantillons et tout particulièrement à chaque changement de lot d'un réactif, effectuer un essai à blanc.

■ Mode opératoire

MATIÈRE SÈCHE

Calculer la matière sèche sur la fraction inférieure à 4 mm en appliquant la méthode appropriée.

MÉTHODE D'EXTRACTION ET DE PURIFICATION

– Peser exactement 20 g d'échantillon homogénéisé dans un flacon en verre de 250 mL.

– Ajouter 20 mL d'acétone et agiter manuellement un court instant.

– Ajouter 10 mL de la solution du solvant d'extraction à 100 mg/L en C10 et C40 puis fermer le flacon et agiter mécaniquement pendant 30 minutes.

– Transvaser le contenu du flacon dans une ampoule à décanter de 250 mL, y ajouter 30 mL d'eau distillée et agiter 1 minute à l'Agitelec.

– Laisser reposer pendant 5 minutes, temps nécessaire à la séparation des 2 phases ; éliminer la phase aqueuse puis poursuivre le rinçage de la phase organique avec 2x70 mL d'eau distillée avec à chaque fois une agitation d'1 minute.

– À l'aide d'une pipette pasteur, transférer la couche organique, par le haut de l'ampoule, dans un tube à essai de 15 mL en verre.

– Ajouter 0,5 g de sulfate de sodium anhydre pour le séchage et agiter 5 à 10 secondes.

– Ajouter 3 g de Florisil par petits versements.

– Agiter entre chaque versement sur agitateur vibrant ; le florisil doit cesser de se colorer et la solution doit devenir limpide.

– Après stabilisation, transférer la prise d'essai de l'extrait dans un vial.

Note : l'efficacité de la purification doit être vérifiée à chaque changement de lot de Florisil.

Dosage par chromatographie en phase gazeuse

RÉGLAGE DU CHROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE

Régler le chromatographe suivant les instructions du fabricant et selon les conditions de programmation (les températures peuvent être à ajuster en fonction du vieillissement de la colonne).

Vérifier que :

– la séparation est optimale ; pour cela les pics du chromatogramme du mélange étalon de n-alcanes doivent être séparés de la ligne de base et vérifier également que le rapport aire du pic du n-tétracontane ($C_{40}H_{82}$) sur l'aire du pic du n-eicosane ($C_{20}H_{42}$) (C40/C20) soit au moins égale à 0,8 car dans le cas contraire la discrimination du système d'injection est trop élevée et le système d'injection doit être optimisé ou remplacé ;

– les conditions permettent d'éluer le pentacontane (C50) : injecter un mélange commercial de n-alcanes.

Paramètres d'intégration

Intégrer le chromatogramme entre le n décane ($C_{10}H_{22}$) et le n-tétracontane ($C_{40}H_{82}$).

Démarrer l'intégration juste après le pic du n-décane et mettre un terme à l'intégration juste avant le début du pic du n-tétracontane.

Vérifier tous les chromatogrammes visuellement pour garantir une intégration correcte. Le système de traitement des données doit tracer une ligne entre ces deux points.

La présence de pics entre le pic solvant et celui du n-décane indique que l'échantillon contient probablement des hydrocarbures volatils à faible point d'ébullition.

La présence de pics discrets ou une augmentation de la ligne de base à la fin du chromatogramme (temps de rétention supérieurs à celui du n tétracontane) indique que l'échantillon contient des hydrocarbures ayant un point d'ébullition élevé.

ÉTALONNAGE

Analyser au minimum cinq dilutions du mélange d'étalonnage. Calculer la fonction d'étalonnage par une analyse de régression linéaire des aires de pics corrigées. Le blanc des étalons est inclus.

Le R^2 doit être supérieur ou égal à 0.99, sinon recommencer l'étalonnage après élimination de la cause.

VÉRIFICATION SUPPLÉMENTAIRE

Vérifier que les blancs de manipulations ou essais à blanc sont corrects : ≤ à LQ en mg/kg.

Taux de récupération (TR)

Lors de chaque série, faire en parallèle un dosage sur un sol de référence. Pour un sol déshydraté, ajouter 10 % d'eau ultra-pure, homogénéiser et laisser en contact 2 heures avant de procéder à l'extraction.

Déterminer les valeurs de rendement de la procédure selon la formule :

$$TR = \frac{\text{concentration expérimentale}}{\text{concentration théorique}} \times 100$$

Calculs

– Calculer la teneur en huile minérale ρ en mg/kg d'échantillon sec à l'aide de l'équation suivante :

$$\rho = ((A_{corrigée} - b)/a) \times (V/m) \times F \times (100/MS)$$

$A_{corrigée}$ = aire intégrée du massif d'huile sur l'aire du décane, en unités correspondant à l'instrument.

b = ordonnée à l'origine, en unités correspondant à l'instrument.

F = facteur éventuel de dilution de l'extrait d'échantillon.

a = pente de la fonction d'étalonnage en litre par milligrammes.

V = volume en millilitres de l'extrait.

m = masse, en grammes, de l'échantillon brut (20 g normalement)

MS = teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage massique.

– Soustraire de la valeur obtenue la valeur obtenue pour le témoin de la série.

G

Interprétation des résultats analytiques

1 • GÉNÉRALITÉS

Les eaux naturelles constituent un milieu complexe. Si leurs compositions sont en relation directe avec les constituants des sols et des couches géologiques traversées, la qualité des eaux est largement affectée par le couvert végétal, les pratiques agricoles, l'urbanisation et plus généralement par l'activité économique développée dans les paysages où elles coulent.

Mais c'est surtout depuis l'essor de la chimie au cours du XXe siècle et la mise sur le marché de plusieurs dizaines de milliers de substances de synthèse au travers de l'agrochimie, de la pharmacie humaine et vétérinaire, des produits phytosanitaires, des solvants, des matériaux, etc. que la contamination des eaux naturelles s'est diversifiée. Ceci explique l'inflation, au cours des dernières décennies, du nombre de paramètres utilisés pour définir la qualité des eaux.

Sur le plan microbiologique ce sont les écoulements et les rejets d'eaux résiduaires de toutes natures qui contaminent les ressources, mais les épandages des effluents d'élevage peuvent également constituer une menace sérieuse pour la qualité microbiologique des eaux de surface et des eaux littorales. Par ailleurs, certains usages de l'eau peuvent aussi contribuer à l'émergence de populations microbiennes à risques comme les *Légionella* ou les amibes par exemple dans les eaux réchauffées.

Dans ce contexte, il est utile de prescrire en fonction des usages de l'eau un panel de paramètres qui couvrent l'étendue des risques encourus.

1.1 Paramètres physicochimiques de la qualité des eaux

L'analyse d'une eau pourra, en fonction des objectifs fixés, porter sur quelques paramètres d'intérêt sanitaire, s'il s'agit d'une eau de baignade, ou sur plusieurs dizaines de paramètres, s'il s'agit de définir la qualité d'une masse d'eau au sens de la directive cadre de la communauté européenne ou encore de l'eau produite pour l'alimentation humaine d'une collectivité. Il y a alors un intérêt évident à regrouper les paramètres descripteurs en ensembles homogènes pour permettre une interprétation pertinente des résultats analytiques.

1.1.1 Descripteurs de l'aspect physique d'une eau

Les eaux de surface contiennent de nombreuses particules constituées de débris de végétaux, de limons, de biomasse, etc. Ces matières particulaires sont quantifiées par la mesure des matières en suspension (§ A-3.3). Elles représentent la masse de dépôts secs obtenus après une filtration

sur une membrane de porosité de 0,45 µm. Le résultat s'exprime en mg/L (cf. § A-5.1).

Lors de cette opération on constate le plus souvent que le filtrat n'est pas limpide. Les particules les plus fines « colloïdes » rendent l'eau « trouble », c'est ce que l'on appelle la turbidité (cf. § A-3.5). Sa mesure est fondée sur l'atténuation et la diffusion d'un faisceau de lumière blanche au contact des particules. Ainsi la turbidité est d'autant plus élevée que la densité des particules contenues dans l'échantillon d'eau est forte. Exprimée en unité NFU (*Nephelometric Formazine Unit*) on en unité NTU (*Nephelometric Turbidite Unit*) on obtient sur les eaux de surface des valeurs qui oscillent généralement entre 10 et 50, mais après de fortes précipitations on peut dépasser 100, voire 200. Au-delà le paramètre n'est plus pertinent. Il faut alors utiliser le paramètre MES qui dans ce contexte est le paramètre le plus fidèle pour représenter et quantifier les matières particulaires.

La turbidité est un paramètre important à suivre lors de la production d'eau destinée à l'alimentation humaine, car il rend compte de la bonne efficacité des étapes de clarification et de filtration. Sur les eaux des zones karstiques, la turbidité permet de suivre la dégradation de la qualité, notamment microbiologique, consécutive aux épisodes de pluies intenses.

Le dernier paramètre descripteur de l'aspect physique d'une eau est la « couleur » (cf. § A-2.1).

La couleur d'une eau est due à l'absorption sélective de certaines bandes de la lumière blanche par des substances dissoutes qui comportent des groupements chromophores. Elle s'exprime par rapport à une échelle de couleur étalon obtenu avec une solution d'un sel double de cobalt et de platine. Aussi l'exprime-t-on en mg/L de Pt.

Les eaux de surface les plus colorées sont riches en substances humiques. La couleur peut alors dépasser 50-60 mg/L de Pt. Mais des hydroxydes de fer peuvent également dans les eaux souterraines être responsables de la couleur observée. Toute eau alimentaire doit être limpide et incolore (couleur inférieure à 5 mg/L de Pt).

1.1.2 Paramètres descripteurs de la charge organique d'une eau

On trouve dans les eaux naturelles de nombreuses substances organiques : protéines, acides aminés, substances humiques, molécules de synthèses, algues etc. Substances complexes issues de la dégradation des végétaux, du lessivage des sols, ou contenues dans les rejets multiples et variés d'eaux usées.

Pour évaluer la teneur en matières organiques d'une eau on dispose d'indices (demande chimique en oxygène, oxydabilité au permanganate de potassium par exemple) et de paramètres plus spécifiques.

Jusqu'alors le paramètre le plus utilisé pour les eaux naturelles et les eaux alimentaires était l'oxydabilité au $KMnO_4$ ou indice permanganate (cf. § A-9.1). L'oxydation des matières organiques est réalisée à chaud en milieu acide par $KMnO_4$ selon un protocole normalisé. Le résultat est exprimé en équivalent de consommation d'oxygène mg/L O_2.

Les eaux de surface ont des oxydabilités qui oscillent le plus souvent entre 3 et 8 mg/L O_2. Au-delà de 10 mg/L O_2 les eaux présentent des difficultés

pour la production d'eau potable. Les eaux souterraines de bonne qualité ont généralement une oxydabilité inférieure à 1 mg/L O_2. Mais le fer à l'état ferreux peut interférer en réagissant avec le permanganate.

C'est entre autres, une des raisons pour lesquelles on préfère aujourd'hui utiliser un paramètre plus fidèle et plus spécifique : le COT (carbone organique total) ou le COD (carbone organique dissous) (cf. § A-9.4). Ces paramètres permettent d'obtenir des résultats plus fiables avec une incertitude de l'ordre de 0,1 mg/L C.

Les eaux souterraines généralement pauvres en carbone organique ont des COT compris dans la plage de 0,5 à 1 mg/L C, alors que dans les eaux superficielles les valeurs de COT s'étendent de 3 à 10 mg/L, voire plus lors des épisodes pluvieux ou dans les eaux en cours d'eutrophisation.

Dans les eaux destinées à l'alimentation humaine, les matières organiques nuisent à la qualité de l'eau, car elles réagissent avec les désinfectants, notamment le chlore, en donnant des sous-produits indésirables (halométhanes, acide chloroacétiques, etc.).

À côté du COT on utilise également depuis quelques années pour les eaux alimentaires l'absorbance en lumière U.V. (cf. § A-9.9); Ce paramètre est plus sensible et il rend compte en particulier de la matière organique dissoute comportant des motifs conjugués. Il peut également donner des informations qualitatives.

Les matières organiques contiennent également de l'azote et du phosphore. Pour cette raison, il est intéressant de rapporter le COT à la valeur d'azote organique d'une eau. Ce rapport C/N s'élève avec l'influence des substances humiques (pour atteindre 8-10) alors qu'il est voisin de 5-6 pour la majorité des eaux de rivière.

Le paramètre azote organique (cf. § A-9.6) est important pour les eaux alimentaires, car les liaisons hydrogène des motifs N-H conduisent facilement à des liaisons N-Cl lors de la désinfection par le chlore. Ces réactions génèrent une demande en chlore très évolutive avec le temps de séjour dans les réseaux et conduisent à la formation de composés sapides comme NCl_3.

L'azote ammoniacal et l'ion nitrite sont également des paramètres à considérer pour évaluer la pollution organique d'une eau, alors que l'ion nitrate provient essentiellement du lessivage des sols et de l'infiltration pour les eaux profondes.

Le phosphore total (cf. § A-9.7) est présent dans les eaux naturelles sous deux formes : phosphate et phosphore organique.

Une partie importante du phosphore contenu dans les eaux provient des rejets urbains. Assimilé par les algues, les phosphates se transforment en phosphore organique sous l'influence de la photosynthèse. Au-delà de 20 µg/L en P dans les eaux naturelles, cet élément est considéré comme un facteur déterminant de l'eutrophisation des plans d'eau.

Les paramètres que nous venons d'examiner : oxydabilité au $KMnO_4$, COT, N organique, NH_4^+, NO_2^- permettent d'établir le niveau de pollution organique d'une eau. C'est naturellement dans les eaux de surface que l'on observe les valeurs les plus élevées.

Pour fixer les idées nous résumons ci-dessous les plages de valeurs couramment observées pour des eaux de bonne qualité, jusqu'aux eaux de qualité médiocre :

– COT 2 à 12 mg/L C,
– N organique 0,3 à 2 mg/L N,
– NH_4^+ 0,1 à 2 mg/L N,
– NO_2^- 0,05 à 0,6 mg/L NO_2

Quant à la teneur en nitrate des eaux, elle dépend essentiellement de l'intensification de l'agriculture sur les bassins versants et dans une moindre mesure des rejets en azote des effluents industriels et urbains. Elle peut atteindre et parfois dépasser 50 mg/L de NO_3 dans les eaux de surface en hiver au moment des lessivages des sols. Le nitrate étant très soluble, il rejoint aussi les eaux souterraines et les nappes des zones de grandes cultures présentent également des concentrations élevées en nitrate.

Une fraction des composés organiques présents dans les eaux de surface peut être dégradée par la biomasse. Cette part est évaluée par la demande biologique en oxygène dissous et indirectement, mais rapidement, par la teneur en oxygène de l'eau qui dépend également, à la saturation, de la température de l'eau et de la pression atmosphérique.

1.1.3 Éléments minéraux des eaux

■ Éléments majeurs

Les composés minéraux présents dans les eaux naturelles trouvent leur origine dans les échanges qui se produisent entre l'eau et le sol et entre l'eau et l'atmosphère pour les gaz (CO_2 et oxygène dissous).

Certains éléments conditionnent pour une part importante le développement de la biomasse, qui éventuellement, peut modifier les caractéristiques physicochimiques d'une eau de surface.

■ Éléments fondamentaux

Ainsi nommé en raison des propriétés qu'ils confèrent à l'eau, il convient d'accorder une attention particulière aux espèces carboniques, aux produits de dissociation de l'eau et au calcium.

La stabilité du *p*H (cf. § A-5.3) (pouvoir tampon) dépend en effet des équilibres de dissociation de l'acide carbonique (cf. § A-4.4 et A-5.8) (dont la teneur peut être élevée dans certaines eaux souterraines) ainsi que de la concentration en CO_2 total (somme des trois formes H_2CO_3, HCO_3^- et CO_3^{2-}) :

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3,$$

(1) $H_2CO_3 + H_2O \leftrightarrow HCO_3^- + H_3O^+$ $pK_1 = 6{,}41$ à 18 °C

(2) $HCO_3^- + H_2O \leftrightarrow CO_3^{2-} + H_3O +$ $pK_2 = 10{,}4$ à 18 °C

On rappelle que la réaction de dissociation de l'eau conduit à l'équilibre

$$\text{(e)}\ 2H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + OH^-$$

Les valeurs des constantes de dissociation montrent que lorsque le pH de l'eau est inférieur à 6,4 l'espèce dominante est l'acide carbonique (ou CO_2 libre) alors qu'au voisinage de la neutralité, c'est l'ion hydrogénocarbonate qui représente l'essentiel du CO_2 total.

Dans les eaux alimentaires distribuées par un réseau public on cherche à obtenir des eaux à l'équilibre calco-carbonique (cf. § A-6) pour permettre le dépôt filmogène ce carbonate de calcium :

(s) $Ca^{2+} + CO_3^{2-} \leftrightarrow Ca\,CO_3$ $pK_s = 8{,}26$ à 18 °C

La combinaison des relations (1) (2) (s) permet, dans ces conditions strictes, de calculer la quantité exactement nécessaire d'acide carbonique pour obtenir l'équilibre calco-carbonique. Elle est appelée CO_2 ou acide carbonique équilibrant. On la détermine à partir de l'équation suivante :

$(H_2CO_3) = K'_2/K'_1K'_s\,(Ca^{2+})\,(HCO_3^-)$ avec des concentrations ( ) exprimées en mole/L.

Le pH d'équilibre est quant à lui déterminer à partir des relations (2) et (s) :

$(H_3O^+) = K'_2/K'_s\,(Ca^{2+})\,(HCO_3^-)$ avec des concentrations ( ) exprimées en mole/L.

(Les valeurs des constantes K' sont déterminées, pour une température donnée, à partir des constantes thermodynamiques K en tenant compte de la force ionique de l'eau et des coefficients d'activité.)

L'équilibre calco-carbonique d'une eau, à une température choisie, peut être déterminé à l'aide d'un diagramme. Actuellement, le plus complet et le plus facile à exploiter est le diagramme dit de « Legrand et Poirier » qui ont retenu pour les coordonnées du graphique de la courbe d'équilibre : le CO_2 total en ordonnée et le Ca^{2+} en abscisse, les deux grandeurs sont exprimés en m. mole/L.

La dureté d'une eau est appréciée au moyen de deux paramètres, le titre alcalimétrique complet (TAC) (cf. § A-5.7) et le titre hydrotimétrique (TH) (cf. § A-5.9). Ce dernier fournit la concentration globale en calcium et en magnésium exprimée en mé/L ou en °f. Lorsque ces titres sont faibles (de l'ordre de 5 °f) l'eau est qualifiée de douce. Au-dessus de 25-30 °f elle est considérée comme dure. De telles eaux donnent par élévation de la température un précipité de carbonate de calcium (tartre). Par ailleurs calcium et magnésium se combinent avec les savons et les détergents en neutralisant leurs effets. C'est la raison pour laquelle les eaux dures ne sont pas appréciées pour les usages domestiques et certains usages industriels.

■ Éléments caractéristiques

Ils sont ainsi nommés, parce qu'ensemble ils constituent la fiche d'identité d'une eau. Ces éléments majeurs : Na^+, K^+, Mg^{2+} pour les cations et Cl^-, NO_3^-, SO_4^{2-} pour les anions ne donnent pas, aux pH habituels des eaux, de réaction d'hydrolyse, ni de réaction de précipitation. Ainsi leurs concentrations varient de façon indépendante dans les eaux et la probabilité de trouver deux eaux ayant, aux incertitudes expérimentales près, les mêmes valeurs pour les six paramètres est très faible. Il y a en général entre deux eaux d'origine différente, au moins deux, voire trois paramètres qui ont des valeurs distinctives. On pourra alors, par exemple, utiliser ces paramètres pour évaluer un pourcentage de mélange de deux eaux dans un réseau donné.

Ensemble, les ions des éléments majeurs (fondamentaux et caractéristiques) donnent à l'eau sa conductivité. À défaut d'une détermination complète des

concentrations de ces éléments, on peut faire une estimation grossière de la somme en mé/L des anions et des cations majeurs en divisant par 50 la conductivité exprimé en µS/cm. À titre d'exemple, une eau dont la conductivité est de 450 µS/cm aura une teneur en éléments majeurs de l'ordre de 9 mé/L (4,5 mé/L pour les cations et 4,5 mé/L pour les anions).

1.1.4 Éléments mineurs

À côté des éléments majeurs que nous venons de décrire, les eaux contiennent de nombreux autres éléments que nous qualifierons de mineurs, en raison de leurs concentrations généralement plus faibles que pour les premiers.

Les métaux dominants dans les eaux naturelles sont : l'aluminium (cf.§ A-7.2), le fer (cf. § A-7.26) et le manganèse (cf. § A-7.34). De l'ordre de la fraction de mg/L dans les eaux de surface, les concentrations en fer peuvent être très élevées dans certaines eaux souterraines (jusqu'à 10 voire 15 mg/L). Dans ces eaux totalement désaérées, le potentiel redox est très bas et le fer se trouve à l'état ferreux. Dans de telles eaux la teneur en silice (cf. § A-7.46) revêt une importance particulière pour le traiteur d'eau en raison des complexes que forment ses produits de dissociations ($HSiO_3^-$ par exemple) avec les ions ferreux.

C'est également dans les eaux souterraines que l'on rencontre les plus fortes teneurs en manganèse (jusqu'à 0,5 voire 1 mg/L), alors que dans les eaux de surface la concentration en Mn^{2+} varie le plus souvent de 0,02 à 0,2 mg/L. Les valeurs les plus élevées se rencontrent en automne, car le manganèse est essentiellement apporté par la décomposition des feuilles des arbres.

Beaucoup d'autres métaux peuvent être présents à l'état de traces (de l'ordre du µg/L à quelques dizaines de µg/L) dans les eaux naturelles : cuivre, zinc nickel, chrome, cobalt, cadmium, mercure, etc., mais aussi fluor, arsenic et sélénium.

L'origine de ces éléments peut être géologique. C'est ainsi que certaines eaux souterraines peuvent avoir par exemple, des teneurs en arsenic (massif central) ou en sélénium (Poitou) ou encore en nickel (nord de la France et Franche Comté) de quelques dizaines de µg/L.

Dans les eaux de surface, les teneurs en éléments métalliques qui se détachent du bruit de fond habituel, signent le plus souvent des contaminations d'origine anthropique. Les niveaux de concentration dépendent bien évidemment des rejets d'eaux usées et du paysage industriel des bassins versants considérés.

Les métaux se concentrent dans les vases et les sédiments. C'est la raison pour laquelle les programmes de prélèvements et d'analyses des agences de l'eau focalisent les dosages de métaux dans ce type de compartiment.

Pour les eaux des réseaux d'adduction publique ce sont les corrosions des canalisations, notamment à l'intérieur des immeubles, qui sont, le plus souvent, responsable de la contamination par les métaux (fer, cuivre zinc ou plomb) au robinet du consommateur.

1.1.5 Micropolluants organiques

Avec le développement considérable de la chimie de synthèse depuis le milieu du xxe siècle, de nombreuses molécules relevant de domaine divers : phytosanitaires, produits pharmaceutiques et vétérinaires, cosmétiques, produits ménagés, hydrocarbures, solvants, matériaux etc., peuvent être retrouvés dans les eaux naturelles, les eaux de surface en particulier.

Seules quelques familles de produits utilisés en quantités importantes par l'industrie, l'agriculture ou les besoins domestiques font l'objet, lorsque leur profil ou leur comportement dans l'environnement le justifie, de recherches et d'analyses périodiques dans les ressources.

Depuis quelques années, les résidus de médicaments, notamment des antibiotiques et quelques substances naturelles comme les toxines produites par certaines algues (cyanotoxines par exemple) font l'objet de programmes de recherche ciblés.

L'important essor des moyens analytiques depuis une dizaine d'années permet aujourd'hui de couvrir une gamme importante de composés, avec pour la majorité d'entre eux, des seuils de quantifications dans l'eau qui atteignent la dizaine, voire le nanogramme par litre.

Ces progrès ont un intérêt majeur, car ils permettent de suivre l'évolution des résidus de ces substances dans l'environnement. Mais, si l'on ne prend pas suffisamment de recul lors de l'interprétation des résultats ainsi obtenus, cette puissance de l'analyse et de la détection risque de donner un sentiment d'amplification des vagues de contamination de nôtre environnement. Alors que depuis les années 1990-2000 une sensibilisation, puis de véritables efforts sont faits pour épurer les eaux usées et diminuer les rejets de toutes natures dans l'environnement et en direction des ressources en eaux en particulier.

Dans ce domaine, comme pour les toxiques minéraux, la toxicologie, l'écotoxicologie, l'expologie et dans quelques situations adaptées l'épidémiologie, apparaissent comme des sciences fondamentales pour définir des valeurs toxicologiques de références (VTR) indispensables pour conduire les évaluations de risques qui permettent de proposer ensuite des seuils ou des valeurs limite si utiles pour interpréter les résultats analytiques. Nous développons ce point dans les pages suivantes.

1.2 Paramètres microbiologiques

Si les souterraines sont naturellement protégées de la contamination par des germes pathogènes, de nombreux micro-organismes sont présents dans les eaux de surface, bactéries, virus, parasites, etc. Parmi eux, certains sont pathogènes pour l'homme et peuvent être responsables d'épidémies. La transmission des maladies d'origine hydrique dépend de trois facteurs : **l'agent, l'environnement et l'individu.**

L'agent est l'organisme infectant dont le développement est à la base même de la maladie. Ce peut être une bactérie (salmonella, leptospire, vibrio cholerae, etc.), un virus (virus de l'hépatite A) un parasite protozoaire ou métazoaire (giardia, cryptosporidium, amibes par exemple). Chaque

agent a des caractères qui lui sont propres : pathogénécité et virulence notamment.

L'agent pathogène peut être porté par l'homme ou l'animal, en incubation ou en cours de maladie, mais plus tardivement encore (porteurs chroniques). Il existe aussi et surtout des porteurs sains, c'est-à-dire des individus qui éliminent et disséminent autour d'eux des micro-organismes dangereux, sans faire eux-mêmes de troubles.

Dans le cas des maladies hydriques, les agents contaminateurs proviennent habituellement du tube digestif de l'homme ou de l'animal et ils sont éliminés principalement par les matières fécales, éventuellement par les urines (leptospires par exemple).

C'est la raison pour laquelle la recherche des germes témoins de contamination fécale est aussi généralisée dans les eaux.

L'environnement : la transmission d'une maladie contagieuse par voie hydrique suppose un transfert de germes par l'eau depuis un émetteur (l'homme ou l'animal), le plus souvent par les fécès, vers un autre individu, consommateur ou en contact avec l'eau contaminée. Les germes pathogènes se trouvent donc confrontés lors de leur circulation dans l'environnement à des conditions qui leur sont plus ou moins hostiles (température, milieu pauvre). Certains peuvent se reproduire si les conditions de vie ne leur sont pas trop défavorables (agrégation autour de particules riche en matières organiques).

L'environnement intervient en fournissant des réservoirs de germes (humains ou animaux) ainsi que des vecteurs qui sont bien souvent les hôtes intermédiaires indispensable au développement des cycles parasitaires (simulie pour l'onchocercose, anophèle pour le paludisme).

L'individu réagit à toute infection en fonction de son statut personnel : plus ou moins bonne santé, défenses immunitaires, etc. C'est la raison pour laquelle la notion de dose minimale infectante est très difficile à établir. Au-delà d'une résistance non spécifique, une résistance spécifique peut être développée vis-à-vis de tels germes par la vaccination (typhoïde, choléra, hépatite A) ou naturelle à la suite d'une exposition habituelle à tel ou tel agent infectieux à virulence réduite.

Dans la propagation d'une épidémie, les individus sont à la fois cibles de l'infection et sources de germes. Ce sont les matières fécales des hommes et des animaux qui contaminent les eaux.

C'est la raison pour laquelle on définit le niveau de contamination d'une eau naturelle à l'aide des germes de la flore fécale : E. coli et entérocoques fécaux.

Dans les eaux de source de bonne qualité aucun de ces germes n'est présent.

Pour les eaux traitées destinées à l'alimentation humaine, les germes recherchés doivent être indicateur de l'efficacité des traitements (de désinfection en particulier).

Pour des raisons d'abondance dans la ressource utilisée, de facilité analytique et de coût, on recherche également dans l'eau traitée les germes indicateurs de contamination fécale. On sait aujourd'hui que l'absence de ces bactéries dans les 100 mL d'eau analysée ne garantit pas l'absence

de virus ou de protozoaire dont la sensibilité aux désinfectants (ozone et chlore) est moindre que celle des indicateurs de contamination fécale.

C'est la raison pour laquelle la recherche de micro-organismes cibles peut être utile pour prendre en compte des risques locaux ou pour évaluer des procédés spécifiques de traitement des eaux mis en œuvre pour éliminer par exemple des protozoaires ou encore lutter contre les *Legionella*.

1.3 Notion de risque acceptable

La vie humaine se déroule au milieu de risques de toutes espèces : accident du travail[1], accidents de la circulation, accidents liés aux loisirs et la pratique de sports, accidents domestiques (électrocution, intoxication, brûlures, chutes diverses…), etc. Certaines de ces activités ont un caractère indispensable, d'autres sont utiles à la vie quotidienne ou tout simplement agréables ou intéressantes à divers points de vue. Les risques qui en découlent sont d'autant mieux acceptés que l'on est acteur et que l'on retire de la situation ou de l'activité satisfaction et plaisir.

Les risques collectifs liés à l'alimentation et à l'eau, en particulier, ne bénéficient pas du même statut. Les populations de nos pays industrialisés souhaitent un environnement sain et exigent une eau d'alimentation collective qui soit sûre. La présence dans l'environnement humain de contaminants naturels (pollens par exemple) ou anthropiques et de micro-organismes pathogènes induit des risques qui malgré les dispositifs de prévention et les traitements curatifs mis en œuvre ne peuvent pas être réduit à zéro. Ces risques doivent donc être réduits à un niveau « acceptable ».

La notion de « risque acceptable » tient compte du fait tangible que la collectivité et l'individu ne peuvent renoncer à avoir des activités ou à utiliser un certain nombre de biens et de produits qui comportent des risques plus ou moins perceptibles et d'importance variable.

La réponse à ce dilemme repose sur l'évaluation et la gestion du risque. Ce corpus de principes et de méthodes permet, en tenant compte du rapport inverse qui doit exister entre la gravité d'un danger et la probabilité d'occurrence du risque qui lui est associé, de proposer des valeurs toxicologiques de référence (VTR), puis les valeurs guide ou les valeurs limites qui seront ensuite utilisées pour fixer les objectifs de qualité des eaux en relation avec les différents usages.

1.4 Démarche d'évaluation des risques

L'évaluation du risque sanitaire est une démarche qui structure et analyse les connaissances scientifiques disponibles à un moment donné pour

1. Il est généralement considéré que le niveau le niveau de sécurité d'une entreprise est satisfaisant lorsque le risque associé à un danger identifié est de l'ordre de 10^{-4}.

élaborer, à partir d'éléments objectifs, les décisions en matière de santé publique.

Lorsque l'on cherche à évaluer les risques pour la santé d'une exposition à des substances chimiques telles que nitrate, plomb, arsenic ou pesticides par exemple, le réflexe est de se tourner vers la toxicologie et, plus particulièrement, la toxicologie animale. Cela se justifie par plusieurs raisons : l'expérimentation est interdite chez l'homme pour des raisons éthiques évidentes ; la possibilité d'exposer les animaux à de fortes doses permet de gagner du temps et de l'argent en diminuant la taille des échantillons nécessaires pour mettre en évidence un effet donné ; les travaux épidémiologiques sont moins faciles d'accès, coûteux et d'interprétation souvent délicate puisqu'ils sortent du cadre expérimental.

Un double problème d'extrapolation se pose alors : de l'animal à l'homme et de hautes doses aux basses doses. Si, en matière de toxicité aiguë, il existe, bien souvent, un seuil à partir duquel le danger apparaît, pour la toxicité chronique en revanche, par exemple pour la cancérogénicité, il n'existe pas de seuil. Dès lors que l'exposition n'est pas nulle, il existe un risque non nul que l'exposition induise un cancer. Il n'est donc pas possible de raisonner en termes de tout ou rien. La question n'est plus : telle substance est-elle dangereuse pour l'homme ? Mais pour cette population exposée à une dose donnée, quel est par exemple le risque d'apparition d'un cas de cancer sur un million de personnes ?

C'est bien en termes de risque qu'il faut raisonner et non pas en termes de danger. Le risque renvoie à la probabilité d'apparition d'une pathologie donnée au sein d'une population déterminée pendant une période de temps fixée. Le danger définit une propriété pathogène (mutagène, tératogène, cancérogène…) d'une substance. Le décideur a besoin d'une connaissance sur le risque pour pouvoir gérer une exposition de façon plus fine que l'autorisation ou l'interdiction d'une substance sur le marché.

Depuis vingt-cinq ans, les méthodes d'évaluation des risques se sont développées de façon considérable. Défini en 1983 par le *National Research Council* des États-Unis, comme l'utilisation de faits scientifiques pour déterminer les effets sur la santé d'une exposition d'individus ou de populations à des matériaux ou à des situations dangereuses, l'évaluation du risque a été largement utilisée pour fixer les concentrations limites de nombreuses substances chimiques dans l'eau ou les denrées alimentaires par exemple. Cette démarche a pour but de présenter de manière explicite aux différentes parties concernées, les éléments d'analyse sur lesquels la prise de décision pourra s'appuyer.

La démarche initiée par l'EPA (*Environmental Protection Agency*) des États-Unis a été reprise par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et de nombreuses instances d'expertise collective depuis une vingtaine d'années.

Pour l'OMS, organisme international qui a la responsabilité de transmettre un message scientifique aux autorités politiques des États, la vérité absolue n'existe pas. Seule une estimation des risques fondée, sur des observations expérimentales et des extrapolations à l'humain sur la base d'hypothèses plus ou moins justifiées, est possible.

Cette méthode comporte quatre étapes :

1. Identification des dangers

L'identification des dangers conduit à répertorier les substances qui méritent de retenir l'attention des autorités sanitaires en raison des effets indésirables qu'elles ont sur les organismes. Cette première étape fait appel à des données épidémiologiques si elles existent, mais plus généralement aux résultats des essais sur mammifères : toxicité aiguë (DL 50), à court et long terme, étude de la reproduction (avec 3 phases), pouvoir mutagène et cancérogène.

2. Relation dose-effets pour les dangers mis en évidence lors de la première étape

Après avoir montré que « toute substance pouvait devenir dangereuse au-delà d'une certaine dose » et qu'il n'y avait pas de risque tant que cette condition d'exposition était évitée Lehman et Fitzhugt introduisent en 1954 la notion de facteurs de sécurité pour déterminer, à partir d'un niveau de dose sans effet observé (ou DSEO), une dose journalière acceptable (ou DJA), précurseur des valeurs toxicologiques de référence (ou VTR).

L'examen de cette relation a pour objet de définir des niveaux de doses « virtuellement sûrs »2 qui constituent la base de l'établissement des normes d'exposition. Mais la question fondamentale à résoudre ici est celle de la méthode permettant d'extrapoler du domaine observable chez l'animal (fortes doses) au domaine non observable chez l'humain (faibles, voire très faibles doses).

Elle admet qu'une fraction de la dose n'ayant entraîné aucun effet chez l'animal n'aura pas d'effet chez l'homme. Cela suppose qu'il existe un seuil en deçà duquel il n'y a pas d'effet toxique.

Lorsqu'on considère les effets à seuil, le choix de l'effet critique est déterminant dans la construction de valeur toxicologique de référence (VTR = dose critique/facteurs d'incertitude et facteurs d'extrapolation à l'homme). Car il permet de fixer l'indicateur de toxicité retenu pour l'étude et influence donc le niveau de la dose critique testée. Sa détermination requiert un jugement toxicologique d'experts.

Les substances cancérogènes génotoxiques sont considérées comme agissant sans seuil et des niveaux d'exposition même très faibles sont associés à un excès de cancer.

Pour les effets sans seuil, l'hypothèse classiquement retenue est qu'une seule molécule de la substance toxique peut provoquer des changements dans la cellule et être à l'origine de l'effet observé. La probabilité de la survenue de l'effet croît avec la dose mais l'intensité de l'effet n'en dépend pas.

Différentes VTR sont proposées dont d'Excès de Risque Unitaire (ERU) pour la voie orale ou l'*Inhalation Unit Risk* (IUR) élaborée par l'US EPA pour la voie respiratoire. D'autres comme le CR (*Excess Lifetime Cancer Risk*) élaborée par le RIVM des Pays-Bas, peuvent être utilisées sans différentiation de la voie d'exposition.

2. Notion introduite par Montel et Bryan en 1961.

L'ERU et le CR correspondent à la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu contracte un cancer s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance cancérogène. Il s'agit en général de la limite supérieure de l'intervalle à 95 % de la pente de la droite (« Slop factor ») qui relie la probabilité de réponse à la dose toxique et dont la plage de validité correspond à un risque compris entre 0 et 1 %.

Cet indice est l'inverse d'une dose et s'exprime en $(mg/kg/J)^{-1}$ ou en $(\mu g/kg/J)^{-1}$.

■ 3. Estimation des expositions

La connaissance de l'exposition est souvent considérée comme une étape essentielle. Sans elle un quelconque risque encouru par les populations ne peut pas être caractérisé et encore moins calculé. Les voies d'exposition sont généralement multiples (dermique, respiratoire, digestive par exemple). L'exposition aux produits phytosanitaires par exemple est très mal connue, mais on sait aujourd'hui qu'à côté de la voie alimentaire, la voie aérienne concerne aussi la population générale.

À défaut d'évaluation, l'OMS admet que seule la voie alimentaire peut être prise en considération. L'évaluation des expositions nécessite des moyens analytiques pour connaître la contamination des denrées et des milieux, ainsi que des protocoles d'enquête adaptés auprès des populations.

■ 4. Caractérisation des risques

La dernière est une étape de synthèse appelée caractérisation du risque. Elle comporte une estimation globale de l'excès de risque liée au contaminant étudié, et prend en considération des facteurs psychologiques, économiques, politiques mais également sociologiques avec comme support déterminant : la perception et l'acceptation du risque par l'opinion, en fonction de sa nature et de son origine.

Au terme d'une démarche d'évaluation des risques il est en effet nécessaire, d'une part, de résumer les données scientifiques en indiquant leur degré d'incertitude et, d'autre part, de fournir aux décideurs des éléments d'interprétation de l'importance des risques en question.

La démarche utilisée par l'OMS pour fixer les valeurs limites qu'il est recommandé de ne pas dépasser ne considère que les aspects quantitatifs et le calcul est fondé sur un niveau d'excès de risque unique (1 cas sur 100 000) sans tenir compte des cocktails de substances auxquels nous sommes assez généralement exposés.

1.5 Construction des valeurs guides pour les substances chimiques

La méthode est adaptée au fait qu'il existe ou non un seuil d'apparition de l'effet indésirable induit par la substance considérée :

– On a un effet déterministe lorsqu'il est possible de définir une dose au-dessous de laquelle aucun effet adverse n'est observé. Au-delà de ce seuil l'effet augmente avec la dose.

– En revanche pour certains composés sans seuil l'effet est dit probabiliste ou encore stochastique.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit la valeur guide (VG) comme une estimation de la concentration d'une substance dans l'eau de boisson qui ne présente pas de risque significatif pour la santé d'une personne qui consommerait cette eau pendant sa vie entière.

■ Effets toxiques à seuil

Pour une exposition par voie orale, la valeur toxicologique de référence est définie comme étant la quantité de substance à laquelle un individu peut être exposé pendant une durée donnée sans qu'apparaissent les effets nuisibles attendus sur sa santé. Différents termes sont utilisés pour les désigner : References doses (RfD) pour l'US EPA, Doses Journalières Tolérables (DJT) pour l'OMS, le RIVM ou Santé Canada.

La VTR est exprimée en masse de substance par Kg de poids corporel et par jour (mg. J/Kg P.c.).

Cette VTR est obtenue à partir d'études à long terme chez l'animal (parfois à partir des études épidémiologiques chez l'homme quand elles sont disponibles) au cours desquelles on détermine la dose critique (DMSENO[3], DMENO[4]), cette dose correspond à la plus faible dose de substance pour laquelle on constate une augmentation statistiquement (ou biologiquement) significative en fréquence ou en sévérité d'un effet nocif observé dans le groupe exposé par rapport au groupe non exposé. Cette valeur est ensuite divisée par les facteurs d'incertitudes, intra, inter-espèces et incertitudes liées aux protocoles et aux observations expérimentales, retenus pour obtenir un niveau de sécurité acceptable pour l'homme.

La VTR ainsi calculée (dose critique/facteurs d'incertitudes) ne représente pas un seuil de toxicité, mais un niveau d'exposition ne conduisant pas à la manifestation d'un effet indésirable.

Ainsi, pour les substances avec effets toxiques à seuil, la valeur guide (VG) pour l'eau, de l'OMS est calculée en tenant compte du poids corporel et de la consommation en eau de la population cible :

$$VG = DJT \times P.c. \times P/V$$

P.c. est le poids corporel retenu : adulte 60 Kg, enfant 10 Kg, nourrisson 5 Kg.

V = volume (l) d'eau consommée par jour : adulte 2 l, enfant 1 l, nourrisson 0,75 l.

P est la part de la DJT attribuable à l'eau de boisson. Elle varie en fonction des modes d'exposition à la substance considérée.

En fait la relation dose-réponse pour une population d'individus sera dépendante des sensibilités très hétérogènes de chacun d'eux. Les enfants en bas âge par exemple, constituent une catégorie particulière de la population car ils sont plus sensibles que les adultes et pour eux les effets

3. Dose Maximale Sans Effet Nocif Observable (ou NOAEL en anglais).
4. Dose Minimale Entraînant un Effet Nocif Observable (ou LOAEL en anglais).

peuvent être plus sévères. Ainsi, les nourrissons et les enfants ont une sensibilité particulière vis-à-vis du plomb.

La présence simultanée de plusieurs substances chimiques donne lieu à des situations variées. Lorsque ces substances ont des effets ou des modes d'action très dissemblables, il est admis que leurs actions respectives sont indépendantes. Mais lorsque les effets sont similaires on considère que l'action engendrée par le mélange des substances peut être au plus additif. On peut aussi considérer dans une troisième hypothèse que la coexistence de plusieurs éléments peut induire des effets inhibiteurs.

Dans la pratique, on retient pour la majorité des produits chimiques la première hypothèse, car dans toutes les situations on évalue en fait le niveau d'exposition qui n'entraine aucun effet observable dans la population.

■ Effets toxiques sans seuil

Dans le cas où l'effet est aléatoire (probabiliste ou stochastique), il n'y a pas pour un individu donné de relation dose-effet, l'effet obéit à la loi du tout ou rien ; il n'est pas spécifique et la gravité est indépendante de la dose. Cependant, pour une population exposée, l'augmentation de la dose conduit à une augmentation de la fréquence d'apparition de l'effet. Toutefois, le temps nécessaire à l'apparition des effets observables est généralement long, en particulier si la dose ou l'exposition est réduite.

Les effets toxiques sans seuil correspondent aux effets génotoxiques, mutagènes, et/ou cancérogènes. Ils se traduisent par un excès de risque, c'est-à-dire par une augmentation de la probabilité de survenue de l'effet adverse, comparativement à la situation où il n'y aurait eu d'exposition à la substance considérée.

La valeur toxicologique de référence peut dans ce cas être définie comme la dose correspondant à la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu développe un cancer s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance.

La démarche est fondée sur :

– la détermination d'un équivalent de dose pour l'homme,

– la modélisation des données expérimentales,

– l'extrapolation à de faibles doses (voire très faibles), des effets observés à des doses élevées chez l'animal.

Différents modèles statistiques ou mécanistiques ont été successivement préconisés pour prendre, au mieux, en compte les connaissances actualisées sur la biologie de la cancérogénèse.

Depuis 1996 l'US EPA recommande l'utilisation du modèle MVK (Moolgovkar – Venzon – Knudson) parfois appelé modèle d'expansion clonal à deux étapes (initiation et promotion).

Les valeurs guides proposées par l'union européenne et reprise dans le code de la santé publique correspondent, pour les substances cancérogènes génotoxiques considérées, à la concentration dans l'eau de boisson associée à un risque additionnel de cancer vie entière de 10^{-6} (1 cas en excès pour 1 million de personnes exposées) sauf pour quelques composés comme l'arsenic et l'ion bromate par exemple dont l'excès de risque

adopté est légèrement supérieur, en raison de difficultés techniques pour obtenir dans l'eau de boisson des concentrations limites plus basses.

Bibliographie

Institut de veille sanitaire (janvier 2002). Valeurs toxicologiques de références : méthodes d'élaboration, INVs 94415, Saint-Maurice.

AFSSA (juin 2004 à avril 2007). Évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine, 94701 Maisons-Alfort, Tome 1.

2 • INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE L'ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE

2.1 Principales substances chimiques et facteurs analysés

Acétonitriles halogénés

Ces produits (cf. § A-10.5) se forment à partir des matières organiques, principalement naturelles, présentes dans l'eau au cours de la chloration ou *in vivo* par absorption d'eau chlorée. Ils peuvent alors se métaboliser en cyanures. Les di-et trichloroacétonitriles se sont révélés tératogènes chez le rat. L'OMS indique pour l'eau de boisson les valeurs guides provisoires suivantes :

– dichloroacétonitrile : 90 µg/L ;
– dibromoacétonitrile : 100 µg/L ;
– bromochloroacétonitrile : pas de valeur ;
– trichloroacétonitrile : 1 µg/L.

Acides chloracétiques

Ces acides (cf. § A-10.5) se forment principalement par une réaction d'oxydation du chlore sur les matières organiques naturelles présentes dans l'eau.

Ils constituent le second groupe (après les trihalométhanes) de sous-produits de désinfection par le chlore et dérivés.

Acide monochloracétique

La teneur de l'eau traitée par chloration est généralement égale ou inférieure à 1 µg/L. Il n'a pas été mis en évidence de cancérogénicité. L'OMS n'indique pas pour l'eau de boisson de valeur guide.

Acide dichloracétique

Cet acide se forme au cours du traitement de l'eau par le chlore. Des teneurs de plusieurs µg/L ont été signalées. Il y a quelques données sur la cancérogénicité de ce composé. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide provisoire de 50 µg/L.

Acide trichloracétique

Cet acide se forme au cours du traitement de l'eau par le chlore. Il est utilisé aussi comme herbicide. Les données toxicologiques et de cancérogénicité

sont limitées mais existent. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 100 µg/L. Les dépassements de cette valeur ne doivent pas conduire à compromettre l'efficacité de la désinfection.

Acide isocyanurique et acide di et trichloroisocyanurique

L'ajout d'acide isocyanurique (cf. § A-13.8) à l'eau des bassins de piscines traitée par le chlore ou ses dérivés stabilise le chlore libre et ralentit sa décomposition par les rayons solaires. Ainsi, se maintient un pouvoir bactéricide sans qu'il soit nécessaire d'accroître d'une façon trop importante les doses de désinfectant. La dose minimale d'acide isocyanurique permettant la stabilisation du chlore est de 30 mg/L. Pour éviter une trop forte stabilisation du chlore libre qui semblerait diminuer son activité germicide, une dose de 50 mg/L ne devrait pas être dépassée et selon la réglementation la teneur en acide isocyanurique doit être inférieure à 75 mg/L. L'acide isocyanurique ne doit pas être utilisé pour la stabilisation du brome car il se formerait des bromo-cyanurates très stables mais dont l'activité germicide est très faible.

Du point de vue de la toxicité aiguë, la DL_{50} chez le rat est supérieure à 5 g/kg pour l'acide cyanurique, à 7,5 g/kg pour l'isocyanurate de sodium et à 1,67 g/kg pour le dichloroisocyanurate de sodium. La toxicité à long terme est pratiquement nulle et il n'y a pas d'action mutagène.

Un certain nombre de composés associent le chlore et l'acide isocyanurique comme le trichloro-s-triazinetrione (acide trichloroisocyanurique), le dichloro-s-triazinetrione de sodium (dichloroisocyanurate de sodium) et le dichlorotriazinetrione de potassium (dichloroisocyanurate de potassium) ; ces produits constituent des sources de chlore sous forme solide. Leur dissolution dans l'eau conduit après un ensemble de réactions chimiques complexes à la formation de formes ionisées ou non de l'acide isocyanurique et de ses dérivés chlorés, qui sont en équilibre avec l'acide hypochloreux. En France, ces produits ont fait l'objet d'une autorisation d'emploi dans les piscines par le ministère de la Santé.

Voir aussi Dichloroisocyanurate de sodium.

Acrylamide

Des résidus de monomères (acrylamide) se retrouvent dans les coagulants utilisés pour le traitement de l'eau de boisson (cf § A-10.2). La dose maximale autorisée est habituellement de 1 mg/L. Dans le cas où ce produit contient 0,05 % de monomère, on retrouvera une concentration maximale théorique de 0,5 µg/L d'eau de boisson. Toutefois les concentrations pratiquées peuvent être 2 à 3 fois plus faibles dans le cas des polyacrylamides anioniques et non ioniques. Par contre elles pourront être plus élevées avec les polyacrylamides cationiques. Du fait de leur utilisation dans l'industrie alimentaire, on peut en retrouver dans les aliments.

Ce produit organique est considéré comme carcinogène ; la concentration correspondant à un risque de cancers supplémentaires de 10^{-6} est de 0,05 µg/L. Étant donné la difficulté d'effectuer une mesure dans l'eau pour des valeurs aussi faibles, le contrôle pourrait être opéré à partir de la concentration maximale du monomère admissible dans le polyacrylamide et de la quantité du polymère pouvant être utilisée comme floculant. Compte tenu de la cancérogénicité de l'acrylamide, l'OMS recommande pour l'eau destinée à la consommation humaine une valeur guide de 0,5 µg/L correspondant à un risque additionnel d'un cancer pour 10^5 individus.

Les réglementations européenne et française ont intégré ce paramètre dans les limites de qualité à la valeur de 0,1 µg/L (en monomère).

Adipate de di (2-éthylhexyle)

Ce produit est surtout utilisé comme plastifiant dans la fabrication des résines synthétiques. Sa présence dans les eaux de surface est rare, elle a été parfois signalée dans l'eau de boisson à la concentration de quelques µg/L. Sa toxicité à court terme est faible. La principale source d'exposition humaine est l'alimentation (jusqu'à 20 mg/j) ce qui s'explique par l'utilisation des emballages en PVC. L'adipate de di (éthylhexyle) est cancérogène. À des concentrations supérieures à 6 000 mg/kg, une prolifération des peroxysomes du foie est obtenue chez les rongeurs, le phénomène s'accompagne de tumeurs hépatiques. Il n'est pas génotoxique. Tenant compte de sa cancérogénicité et de l'absence de preuve de mutagénicité, l'OMS recommande pour l'eau de boisson une valeur guide de 80 µg/L.

Agents de surface (surfactifs, tensioactifs, détergents)

Les produits tensioactifs d'origine synthétique (cf. § A-10.3) sont employés en quantités de plus en plus importantes, tant pour le nettoyage industriel que domestique ; leur concentration dans les eaux de surface qui avait tendance à s'élever constamment est actuellement limitée par l'utilisation de composés biodégradables. Le « détergent », dont le terme désigne toutes les substances possédant des propriétés de nettoyage importantes, est un produit complexe contenant un ou plusieurs agents de surface et des composés minéraux (carbonates, phosphates, polyphosphates, perborates, etc.), souvent associés à des matières organiques améliorantes (carboxyméthyl-cellulose, alkanolamides), à des enzymes hydrolysants et à des séquestrants (dérivés de l'acide éthylènediamine tétracétique et de l'acide nitriloacétique).

Les agents de surface sont classés en produits anioniques et non ioniques (large utilisation) et en produits cationiques (emploi limité). Tous ces produits, extrêmement divers, sont plus ou moins bien dosés par les méthodes habituelles. Les micro-organismes présents dans les cours d'eau et dans les stations d'épuration sont susceptibles de dégrader les agents de surface, mais la biodégradabilité est très variable, même à l'intérieur d'une classe donnée. Les alkylbenzènes sulfonates à chaîne ramifiée (produits

durs) par exemple, sont extrêmement résistants et ne sont pratiquement pas détruits lorsqu'ils sont dilués dans les eaux de rivière. Par contre, les alkylsulfates et les alkylbenzènes sulfonates (ABS) à chaîne linéaire (produits mous) sont sensibles à la dégradation biologique ; ils participent donc à la diminution de la concentration d'oxygène dissous dans les eaux de surface selon les processus de l'auto-épuration. D'une façon générale, la biodégradabilité est liée au degré de ramification de la chaîne alkyl et à sa longueur. Le composé est d'autant moins dégradable qu'il est plus ramifié et que le nombre de carbones de la chaîne est faible. Pratiquement, la biodégradation se traduit par une atteinte de la molécule en bout de chaîne, avec formation d'une fonction alcool, d'une fonction acide, puis la chaîne est raccourcie progressivement par oxydation ; le noyau est ensuite ouvert, puis dégradé. Pour les composés non ioniques, la biodégradabilité des esters polyéthylèneglycoliques à chaîne linéaire est facile ; cependant, elle devient plus difficile avec l'élévation du nombre des molécules d'oxyde d'éthylène. Parmi les agents de surface cationiques, ce sont les ammoniums quaternaires qui sont les plus utilisés, dans les laiteries notamment, en raison de leur pouvoir bactéricide.

La présence de ces produits, utilisés le plus souvent en quantités excessives, se caractérise par des mousses abondantes oblitérant les canalisations, par la non-sédimentation des particules en suspension et par une aération difficile des boues activées dans l'épuration biologique ainsi qu'une inhibition des phénomènes anaérobies dans les digesteurs et les fosses septiques.

La formation de mousses est liée non seulement à la concentration en détergents mais également au *p*H, à la température et à la teneur en calcium, et en magnésium de l'eau ; elle diminue si la teneur en matières organiques dissoutes ou en matières en suspension augmente. Dans l'eau permutée, il faut 5 mg/L d'ABS pour provoquer l'apparition de mousses peu abondantes et instables alors qu'avec 5 mg/L de magnésium, 0,5 mg/L d'ABS suffit. Dans les rivières, les teneurs limites en ABS provoquant l'apparition de mousses peuvent être de l'ordre de 0,3 à 1 mg/L. Les goûts liés à la présence de ces produits n'apparaissent que pour des teneurs supérieures aux quantités limites de formation des mousses. Cependant un goût de savon peut être remarqué pour des concentrations de 4 μg/L. Leur toxicité n'est pas importante dans l'ensemble, surtout aux teneurs rencontrées actuellement dans les eaux de distribution, mais ils peuvent faciliter la solubilisation et la pénétration du benzopyrène-3,4 dans l'organisme. L'action inhibitrice d'oxydation due aux « détergents » peut se rattacher à la formation d'un film protecteur autour de la molécule en solution ; ce film enveloppe en même temps les particules solides inertes ou animées, tout en limitant l'accès de l'oxygène dissous.

En France, il est interdit de déverser des détergents dans les eaux superficielles, souterraines et dans les eaux de mer lorsque la biodégradabilité moyenne des agents de surface (anioniques, cationiques, ampholytes et non ioniques) est inférieure à 90 %. Il y a lieu de noter que la partie résiduelle ayant résisté à la biodégradation serait, selon certains auteurs, plus nocive pour le poisson que l'agent de surface non dégradable.

L'association dans les produits commerciaux de détergents et de polyphosphates peut contribuer à l'eutrophisation des eaux de surface non renouvelées.

À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes et l'ancienne réglementation française indiquaient comme teneur des agents de surface (réagissant au bleu de méthylène) dans l'eau destinée à la consommation humaine une valeur limite de 0,2 mg/L (lauryl sulfate). L'OMS ne donne pas de recommandation, les réglementations européenne et française non plus.

Les agents de surface favorisent l'accumulation des phénols et d'autres substances odorantes dans la chair des poissons. Bien que des doses inférieures à 4 mg/L ne semblent pas présenter de toxicité particulière pour la vie aquatique, le développement de certains organismes serait perturbé avec des concentrations de 100 µg/L. Toutefois il faut aussi considérer que les réactions des organismes aquatiques sont très variables suivant la formule chimique des agents de surface.

L'élimination des agents de surface peut se faire par des méthodes physico-chimiques (moussage, aération, flottation, floculation, fixation sur charbon actif, résines échangeuses d'ions) ou par voie biologique. Les rendements sont très différents selon les méthodes, les plus efficaces n'étant pas forcément les plus difficiles à mettre en œuvre.

Alcalinité

L'alcalinité d'une eau (cf. § A-5.7) correspond à la présence d'hydrogénocarbonates (HCO_3^-), de carbonates (CO_3^{2-}), d'ions hydroxydes (OH^-) et d'une façon plus limitée, aux ions silicates ($HSiO_3^{2-}$), phosphates (PO_4^{3-}) ou encore aux espèces moléculaires des acides faibles. On distingue le titre alcalimétrique simple (*TA*) qui mesure la teneur de l'eau en alcalis libres et en carbonates alcalins caustiques, du titre alcalimétrique complet (*TAC*) qui correspond à la teneur en alcalis libres, carbonates et hydrogénocarbonates.

Dans les eaux naturelles, l'alcalinité, exprimée en HCO_3^- , varie de 10 à 350 mg/L. Certains lacs oligotrophes (lacs pyrénéens), les eaux périglaciaires et les cours supérieurs des réseaux en région siliceuse ont généralement des teneurs inférieures à 25 mg/L. Une alcalinité comprise entre 25 et 50 mg/L se rencontre dans la plupart des cours d'eau en région à substrat acide (Massif central, Bretagne, Vosges). Dans les régions calcaires (Jura, Normandie, Rhône inférieur), l'alcalinité varie de 100 à 250 mg/L. L'alcalinité dépend aussi des rejets urbains (phosphates, ammoniaque, matières organiques, etc.) ou industriels (apports acides ou basiques). Dans les eaux de distribution, la concentration en OH^- est faible, l'alcalinité de l'eau est constituée par des hydrogénocarbonates ou par un mélange de carbonates/hydrogénocarbonates. Pour une eau ne contenant que des hydrogénocarbonates (cas le plus fréquent), $TA = 0$, $TAC = HCO_3^-$. Pour une eau-contenant un mélange carbonates/hydrogénocarbonates,

$$TA = \frac{CO_3^{2-}}{2} \text{ et } TAC = HCO_3^- + 2\ TA.$$

Pour les eaux adoucies ou déminéralisées livrées à la consommation humaine, il est conseillé que l'alcalinité ne doit pas être inférieure à 2,5 degrés français.

Voir aussi Anhydride carbonique, *TA*, *TAC*.

Aldéhydes, formaldéhyde

D'une façon générale, ces produits (cf. § A-10.4) sont des électrophiles puissants grâce à leur groupement carbonyle. Leur toxicité se manifeste par une attaque des sites nucléophiles des constituants cellulaires. Il a été montré expérimentalement que certains aldéhydes ont une action mutagène et cancérogène.

Formaldéhyde

Le formaldéhyde est un gaz soluble dans l'eau et dans les solvants organiques. Il est commercialisé sous forme de solutions aqueuses contenant de 30 à 40 % de formaldéhyde, 10 à 15 % de méthanol et environ 50 % d'eau. Il est très utilisé dans l'industrie chimique, en particulier pour la fabrication des matières plastiques et des mousses d'isolation (urée-formol). Il est aussi employé comme conservateur et désinfectant. L'oxydation des matières organiques naturelles au cours de l'ozonation ou de la chloration forme du formaldéhyde (et autres aldéhydes). Au contact de l'eau, certaines matières plastiques (tel le polyacétal) peuvent libérer du formaldéhyde. L'intoxication se produit généralement par inhalation. Du fait de sa grande réactivité, la plupart des tests de mutagénicité sont positifs. Par contre, les essais effectués sur les mammifères sont contradictoires. La cancérogénicité est aussi très discutée. Le Centre international de recherche sur le cancer a classé le formaldéhyde parmi les substances du groupe 2A : probablement cancérogènes pour l'homme. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande comme valeur guide pour le formaldéhyde 900 µg/L.

Alkylphénols

Voir Perturbateurs endocriniens.

Aluminium

L'aluminium (cf. § A-7.2) est élaboré à l'état métallique à partir de la bauxite, par traitement électrolytique. Métal blanc et brillant, il ne s'altère pas à l'air en raison de la formation d'une couche protectrice d'alumine.

Très répandu sur la terre, l'aluminium vient par ordre d'importance après l'oxygène et le silicium. Lorsqu'il est en solution et en milieu acide, il existe sous forme de Al^{3+} ; dans une solution dont on élève le *p*H progressivement, il forme des oxo-hydrocomplexes monomères et polymères solubles (Al_{13} est le polymère soluble le plus connu). En continuant à augmenter le

*p*H, l'aluminium précipite alors sous forme de trihydroxyde $Al(OH)_3$ qui se dissout à *p*H plus élevé sous forme d'aluminate AlO_2^- (ou $Al(OH)_4^-$). Dans le traitement des eaux de surface par les sels d'aluminium, certains facteurs physico-chimiques et technologiques sont susceptibles d'influencer la concentration en aluminium résiduel. Dans les réactions d'hydrolyse qui se développent, l'aluminium lié au floc a un caractère insoluble alors que les formes ionisées restent solubles. L'accroissement du taux de fuite de l'aluminium est en particulier fonction de la formation de complexes organiques solubles avec les matières humiques, notamment si le traitement est effectué à un *p*H légèrement acide. Il convient donc de conduire la floculation dans des conditions satisfaisantes de *p*H et de doses de coagulants, en vérifiant que le *TAC* de l'eau est suffisant. D'une façon générale, il est impératif que le *p*H soit maintenu inférieur à 7,5. Des teneurs résiduelles même faibles peuvent entraîner des précipitations chimiques secondaires dans les réservoirs de stockage. En présence de ces difficultés, les polychlorures d'aluminium ou le chlorure ferrique peuvent remplacer le sulfate d'aluminium.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (coloration, dépôts), l'OMS recommande comme valeur limite pour l'aluminium 0,2 mg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française considèrent ce paramètre aluminium comme une référence de qualité (et non pas comme une limite) avec une valeur de 0,2 mg/L. En France on considère que 1 à 1,5 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuent une eau dont la teneur moyenne en aluminium est supérieure ou égale à 0,2 mg/L.

Les quantités massives de sels d'aluminium journellement utilisées à travers le monde pour le traitement des eaux n'ont jamais posé de problèmes toxicologiques significatifs. Ses utilisations en pathologie digestive ont confirmé son innocuité. L'aluminium n'est que très faiblement absorbé par l'intestin ; la majeure partie est éliminée dans les fèces sous forme de phosphates insolubles. Le corps humain renferme de 50 à 150 mg d'aluminium, teneur qui varie peu quels que soient les apports extérieurs.

À propos de la toxicité de l'aluminium, il convient de signaler que dès 1972 des cas d'encéphalopathies myocloniques associant des troubles de la parole, des crises convulsives et des perturbations psychologiques ont été observées chez certains sujets soumis de façon chronique à la dialyse rénale et absorbant des gels d'alumine pour éviter une déperdition en ions phosphates. Si le début de la maladie a un caractère progressif, la période d'état a un caractère irréversible, l'évolution s'étalant entre 3 et 15 mois. Le décès peut intervenir soit par suicide par suite d'une aggravation des troubles de la personnalité soit, dans la majorité des cas, à la suite d'une maladie infectieuse ou métabolique, le malade n'étant plus apte à suivre des séances de dialyse.

Bien que d'autres paramètres chimiques ou microbiologiques aient été envisagés concernant l'étiologie de cette affection chez les dialysés, la responsabilité d'une intoxication par l'aluminium a été suspectée à la suite d'études expérimentales et de constatations biologiques. Il a été remarqué que dans les centres où l'encéphalopathie était fréquente, on utilisait des

liquides de dialyse riches en aluminium, et que lorsque l'apport d'aluminium était supprimé, le nombre de cas diminuait. Il a été mis en évidence que l'aluminium du bain de dialyse était susceptible de diffuser à travers la membrane de l'hémodialyseur, ce qui conduit à l'enrichissement du sang, même si la concentration dans le sang est plus élevée. En réalité, l'aluminium sanguin est en majeure partie combiné aux protéines et l'aluminium libre ne l'est qu'en quantités très faibles. Or, le gradient de concentration ne joue que vis-à-vis de cette dernière fraction. Quoiqu'il en soit, le mécanisme de l'action toxique au niveau du cerveau n'est pas encore élucidé. L'absorption régulière de gels d'alumine contribue à la formation de complexes insolubles avec les phosphates, et peut conduire à une déplétion phosphorée avec hypophosphorémie, hypercalciurie, et éventuellement à terme, apparition d'une ostéoporomalacie.

La présence d'aluminium dans les bacs de dialyse peut être due au fait que certains appareillages possèdent des pièces d'aluminium en contact avec les bains, par exemple les électrodes de réchauffement : elle est surtout liée à l'eau de distribution publique. La présence de dispositifs anti-corrosion sur les réseaux intérieurs peut aussi concourir à des ajouts de cet élément. Il a été signalé la formation possible de dépôts d'aluminium sur les membranes d'osmose inverse. Ce phénomène en modifiant le gradient de concentration d'un côté et de l'autre de la membrane pourrait entraîner un relargage dans l'eau osmosée.

Il a été montré que le risque de maladie d'Alzheimer est une fois et demie plus élevé dans les districts de Grande-Bretagne où la concentration moyenne d'aluminium dans l'eau de boisson excède 0,1 mg/L que dans les districts où cette concentration est inférieure à 0,01 mg/L. S'agit-il d'une coïncidence ou d'un problème de méthodologie ? Le rôle de l'aluminium dans la maladie d'Alzheimer est en fait très controversé ; son action éventuelle est difficile à dissocier des autres facteurs potentiels. Toutefois, certains auteurs indiquent que des altérations cérébrales similaires à celles observées dans la maladie d'Alzheimer sont apparues chez des sujets dialysés ayant pris des sels d'aluminium pendant longtemps.

Une station de traitement en bon état de fonctionnement devrait aboutir à une concentration en aluminium inférieure à 50 μg/L dans l'eau distribuée.

L'élimination de l'aluminium ne peut être obtenue par les adoucisseurs classiques ; il convient de pratiquer une déminéralisation soit avec des échangeurs d'ions forts, soit par osmose inverse, et de vérifier le bon fonctionnement des installations par des dosages fréquents de l'aluminium. Si pour les centres importants ces dispositions peuvent être réalisées, le problème est plus difficile à résoudre pour les malades pratiquant une dialyse à domicile. La Pharmacopée française précise que l'eau pour hémodialyse ne doit pas contenir plus de 30 μg/L d'aluminium. Certains pensent que cette valeur devrait encore être abaissée à 15 μg/L.

En ce qui concerne les rejets de sels d'aluminium, des teneurs relativement faibles, de l'ordre de 5 mg/L, seraient susceptibles d'interférer dans les traitements par boues activées.

Amiante

D'une façon générale, beaucoup d'eaux naturelles contiennent de petites quantités d'amiante, de l'ordre de 10^4 à 10^6 fibres par litre, en provenance des roches traversées (serpentines). Les eaux polluées peuvent en contenir de 10 à 100 fois plus. L'emploi de l'amiante, associée au ciment dans les tuyauteries destinées au transport de l'eau, s'est considérablement développé par le passé en raison de la résistance propre du matériau, tant aux variations de pression qu'à la corrosion. Il n'existe pas de méthode chimique adaptée au dosage de l'amiante dans l'eau, de ce fait on est conduit à une séparation par filtration et à des numérations et des mensurations des fibres d'amiante au microscope électronique. Les contrôles sont donc d'une mise en œuvre difficile et onéreuse.

La toxicité de l'amiante est due à ses propriétés physiques et non à sa composition chimique ; les fibres longues et de faible diamètre sont les plus dangereuses. L'établissement d'une relation entre le nombre de fibres et le poids est très délicat. Il est considéré que le potentiel cancérogène d'une fibre est lié à une longueur *L* supérieure à 5 μm, un diamètre *d* inférieur ou égal à 3 μm avec le rapport *L/d* supérieur à 3.

Les fibres d'amiante étant susceptibles de provoquer des affections (fibrose broncho-pulmonaire, mésothéliome) chez les travailleurs qui les manipulent pendant de longues périodes, le problème s'est posé de savoir si l'eau transportée dans les canalisations contenant de l'amiante-ciment pouvait être dangereuse pour les populations, en particulier pour le risque de cancer du tractus gastro-intestinal. Cependant, la quantité d'amiante en provenance de l'eau et susceptible d'être absorbée durant la vie de l'individu est extrêmement faible ; elle a été évaluée aux États-Unis à une centaine de milligrammes. Elle est en tous cas infiniment plus faible que celle susceptible d'être ingérée par les travailleurs qui inhalent de nombreuses fibres de toutes tailles.

L'évolution des techniques analytiques et, en particulier, la microscopie électronique, a permis la mise en évidence en Amérique du Nord de fibres d'amiante dans certaines eaux de distribution à des teneurs très variables, généralement inférieures à 1.10^7 fibres par litre et ne dépassant pas habituellement la taille d'1 μm. Il ne semble pas qu'à ces concentrations, les tuyauteries en amiante-ciment constituent un réel danger pour la santé. Les études sur la toxicité de l'amiante absorbée par ingestion n'apportent pas de conclusions définitives. Cependant, le problème faisant l'objet de nombreuses controverses, le risque épidémiologique ne pourra être significativement établi que par des études approfondies en particulier dans le cas des eaux agressives. Étant donné les très longues périodes de latence pour l'apparition des mésothéliomes liés à l'inhalation d'amiante (de 20 à 30 ans environ), les conséquences de l'ingestion ne pourront être établies avec certitude qu'après de longs délais. En outre, le rôle exact des différentes variétés d'amiante, que ce soit le chrysotile, la crocidolite ou les amphiboles (antophylline, amosite), devrait être précisé, la crocidolite paraissant être la plus carcinogène. De toute façon, à titre préventif, il convient de prendre toute disposition utile pour éviter la corrosion des tuyauteries en amiante-ciment. Les incertitudes évoquées ci-dessus n'ont pas permis jusqu'ici d'établir des recommandations sur la teneur de l'eau en fibres

d'amiante. L'OMS considère qu'il n'est pas nécessaire de recommander une valeur guide car les quantités rencontrées habituellement dans les eaux ne présentent pas de risque pour la santé.

Ammonium

Voir Azote ammoniacal.

Anhydride carbonique

L'anhydride carbonique ou dioxyde de carbone (cf. § A-4.4) est une composante majeure de l'équilibre calcocarbonique. Sa concentration dans l'eau peut varier entre 10^{-5} et1,5 . 10^{-3} mol/L. Généralement, les eaux de surface ne contiennent pas plus de 10 mg/L d'anhydride carbonique. Toutefois, les eaux ayant une activité biologique intense (lacs, étangs, canaux, etc.) sont susceptibles d'avoir des teneurs de plusieurs dizaines de mg/L. Les eaux souterraines peuvent aussi présenter des teneurs plus élevées pouvant être liées à la présence de sources naturelles de gaz et à l'activité bactérienne des sols. Certaines eaux minérales ont des teneurs supérieures à 100 mg/L. Une partie importante de l'anhydride carbonique est libérée assez rapidement au contact de l'atmosphère.

Pour une teneur donnée en hydrogénocarbonates de calcium et de magnésium, il existe une quantité nécessaire d'anhydride carbonique pour stabiliser les hydrogénocarbonates et éviter la précipitation des carbonates. Cette quantité est connue sous le nom d'anhydride carbonique équilibrant. Si une eau contient une quantité supérieure à cette quantité nécessaire, cet excès constitue l'anhydride carbonique agressif. Dans ce cas, il n'y aura pas formation de couches carbonatées protectrices et l'eau sera susceptible de dissoudre des métaux toxiques sur les surfaces en contact (plomb). Par contre, dans le cas où la quantité d'anhydride carbonique libre est inférieure à la quantité théorique d'anhydride carbonique équilibrant, il y aura précipitation des carbonates et incrustation. La présence d'anhydride carbonique donne une saveur plus agréable à l'eau et ne présente aucun inconvénient pour la santé. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent que l'eau ne doit pas avoir un caractère agressif.

D'un point de vue industriel, l'emploi d'une eau exige une bonne évaluation de l'équilibre carbonique, en particulier pour les canalisations et les générateurs de vapeur.

Antimoine

L'antimoine (cf. § A-7.4), séparé de la stibine (Sb_2S_3) qui est son minerai principal, présente une grande similitude avec l'arsenic, mais une toxicité plus faible. Ce métalloïde est connu depuis la plus haute antiquité comme cosmétique et constituant des alliages de bronze. Son association au

plomb et à l'étain permet d'en augmenter la dureté (alliages antifriction, caractères d'imprimerie, munitions). Certains sels sont employés comme catalyseurs dans l'industrie chimique et pour la vulcanisation du caoutchouc (pentachlorure, trichlorure, trifluorure, pentasulfure, trisulfure, etc.). Le trichlorure ($SbCl_3$) sert au bronzage de l'acier et le trisulfure est employé en pyrotechnie. En thérapeutique, les dérivés organiques de l'antimoine sont employés dans le traitement des leishmanioses (dérivés pentavalents) et des bilharzioses (dérivés trivalents).

La présence de l'antimoine a été signalée dans l'eau de mer et dans certaines eaux minérales. Il n'est retrouvé qu'exceptionnellement (quelques microgrammes par litre) dans les eaux dites de surface, probablement en raison de rejets industriels.

Souvent associé dans l'industrie au plomb et à l'arsenic, il convient d'en tenir compte du point de vue de la toxicité.

L'intoxication aiguë peut être déclenchée après absorption d'un gramme d'antimoine ; elle se caractérise par un syndrome intestinal. L'intoxication chronique fait apparaître des troubles hématologiques. L'élimination de l'antimoine est lente ; elle se fait par les voies intestinale et rénale. Il semble que la valence exerce une influence sur la vitesse d'excrétion, l'antimoine trivalent s'éliminant moins rapidement que l'antimoine pentavalent.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande pour l'antimoine une valeur guide provisoire de 5 µg/L, les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent également une valeur limite de 5 µg/L.

Argent

L'argent (cf. § A-7.5) est présent dans de nombreux minerais, le plus souvent sous forme de sulfure. C'est un sous-produit de l'extraction du cuivre, du plomb et du zinc. Il est utilisé en bijouterie, en miroiterie, en photographie, en métallurgie, pour les soudures, les contacts électriques, les amalgames dentaires et en médecine (collyres, collutoires), etc.

L'intoxication chronique (l'argyrie), généralement d'origine thérapeutique, peut se développer pour une dose quotidienne de 0,5 mg d'argent ; elle se traduit par des troubles digestifs, un liseré gingival et une coloration gris bleuâtre de la peau. Cette dyschromie prédomine sur le visage et les régions découvertes, ainsi que sur les ongles. La dose sans effet indésirable observée pour l'argyrie correspondrait à une dose de 10 g d'argent pour une vie entière.

La dose journalièrement absorbée par l'air, l'eau et l'alimentation est estimée entre 20 et 80 µg. L'élimination se fait presque entièrement par les fèces ; environ 50 % de la quantité absorbée est fixée dans l'organisme. Cet élément est quelquefois rencontré dans les eaux à des teneurs de quelques microgrammes par litre.

Des doses supérieures à 0,015 mg/L peuvent conduire à une opalescence de l'eau par formation de chlorure d'argent colloïdal. L'emploi de l'argent

pour le traitement de l'eau destinée à la consommation humaine n'est pas autorisé en France.

Étant donné que la dose susceptible d'être absorbée est très loin de la dose pouvant engendrer des phénomènes toxiques, l'OMS n'a pas jugé utile de fixer une valeur limite. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes et l'ancienne réglementation française indiquaient comme teneur de l'argent dans l'eau destinée à la consommation humaine une concentration maximale admissible de 10 µg/L.

L'action oligodynamique de l'argent a été mise à profit pour la décontamination bactérienne de volumes réduits d'eau : il s'emploie alors à une dose de 0,025 à 0,075 µg/L. Cependant, son pouvoir germicide n'est atteint qu'après quelques heures ; cette action est limitée car le métal n'agit pas sur certaines bactéries, les algues et les champignons. L'argent ainsi introduit s'élimine en partie par fixation sur les parois des tuyauteries, les germes et les matières organiques.

En ce qui concerne la vie aquatique, des concentrations aussi faibles que 0,10 µg/L peuvent entraîner des effets toxiques sur les poissons d'eaux douces.

Arsenic

L'arsenic (cf. § A-7.6) est assez largement réparti dans la biosphère : les roches ignées en contiennent de 1 à 9 mg/kg, les phosphates naturels 20 mg/kg, les charbons 45 mg/kg et les pyrites 5 à 6 g/kg. Il se présente principalement sous forme de sulfures, réalgar (As_2S_2) ou orpiment (As_2S_3).

Les principaux dérivés minéraux sont les anhydrides arsénieux (As_2O_3) et arséniques (As_2O_5), les sels minéraux (arséniures, arsénites, arséniates).

L'arsenic est employé dans la métallurgie (alliages) et en électronique (fabrication des semi-conducteurs). Les dérivés arsenicaux sont utilisés dans les tanneries (sulfure d'arsenic), dans les fabrications de peintures, de fleurs artificielles, de papiers peints, pour la coloration des verres et de la céramique, etc. ainsi qu'en agriculture (anticryptogamiques, raticides, etc.). Après avoir été assez largement employés en thérapeutique, l'arsenic et ses dérivés organiques sont tombés en désuétude.

Sa présence dans l'environnement et par voie de conséquence dans l'eau est à relier à un certain nombre de pollutions : rejets d'eaux résiduaires industrielles, traitement de minerais arsenicaux (cuivre…), combustion du charbon ou de déchets, dépôts de résidus industriels, utilisation d'engrais phosphatés, d'herbicides, d'insecticides et de détergents (les eaux de blanchisserie peuvent en contenir quelques microgrammes par litre). Dans certains cas, des teneurs de quelques microgrammes par litre sont retrouvées dans les eaux de surface, les eaux profondes et les eaux de pluie (dissolution des roches et des minerais). Dans des eaux minérales ; l'arsenic d'origine naturelle atteint quelquefois des teneurs de 10 mg/L. Il n'est pas signalé que le traitement des cultures par les dérivés arsenicaux minéraux ou organiques (insecticides, anticryptogamiques, raticides, etc.)

soit à l'origine de la présence d'arsenic dans les eaux de distribution. Cependant, dans certaines régions où ces produits ont été utilisés en quantités très importantes, il est arrivé d'en retrouver dans les puits par suite d'infiltrations.

L'eau de mer renferme environ 20 µg d'arsenic par litre et les teneurs des sédiments peuvent varier de quelques milligrammes à quelques centaines de milligrammes par kilogramme, d'où sa présence dans les produits de la mer. L'origine en est très discutée (érosion naturelle, lessivage des particules telluriques, éruptions volcaniques, zones de fractures sous-marines, etc.).

L'arsenic est susceptible d'exister à l'état trivalent et pentavalent et sous forme de composés organiques. Bien que la forme exacte sous laquelle il se trouve dans l'eau soit mal connue, il est vraisemblable que l'arsenic est principalement à l'état pentavalent.

La quantité absorbée par l'homme à partir des différentes origines (air, eau, aliments) est estimée entre 100 et 300 µg/jour, l'apport alimentaire est prépondérant.

Les risques de toxicité sont fonction du caractère de solubilité, très différent selon qu'il s'agit d'anhydride arsénieux et d'arséniate de sodium, ou d'arséniate de plomb et de chaux, de la quantité absorbée et de la durée de l'exposition. Les sulfures insolubles ne sont théoriquement pas toxiques mais peuvent le devenir par oxydation. Les composés organiques arsenicaux sont moins toxiques que les sels minéraux ; l'état trivalent est, par ailleurs, beaucoup plus toxique que l'état pentavalent. L'intoxication aiguë se caractérise par des troubles gastro-intestinaux plus ou moins accentués, des troubles hépatiques et rénaux et des manifestations cardiovasculaires d'hypertension et de tachycardie. L'intoxication chronique se traduit par des troubles digestifs, des syndromes mélano-dermiques et neurologiques.

L'arsenic agit dans l'organisme par blocage des groupements thiol, en entraînant des perturbations des processus d'oxydo-réduction cellulaire (As^{III}) et des troubles du métabolisme glucido-lipidique (As^{V}). Certains auteurs pensent que les composés arsenicaux minéraux peuvent inhiber les processus de multiplication cellulaire au niveau de l'ADN et bloquer les mécanismes de réparation, par un phénomène de linkage de l'arsenic au niveau des groupements soufrés. Quelques observations cliniques et expérimentales suggèrent que l'arsenic pourrait avoir la possibilité de supprimer sélectivement les réponses immunitaires.

L'intoxication arsenicale a été mise en cause pour des cancers cutanés apparus à la suite de lésions de kératodermies palmo-plantaires. À Taïwan (1968, 1976), un millier de cas de syndrome mélanodermique plantaire et de cancers cutanés a pu, semble-t-il, être relié à des teneurs relativement élevées (0,6 à 2 mg/L) d'arsenic dans les eaux de puits profonds. De même, il a été noté chez les 100 000 habitants de la ville d'Antofagosta (Chili) qui consommaient de l'eau contenant 580 µg/L d'arsenic plusieurs centaines de lésions cutanées (leucodermies, mélanodermies, hyperkératodermies, cancers squameux). En réalité, les lésions attribuables à l'arse-

nic sont rares. Cependant, une surmortalité par cancers bronchiques a été signalée chez des ouvriers métallurgistes (métaux non ferreux), chez des viticulteurs ou des fabricants de pesticides. L'action cancérogène est controversée : les expérimentations pratiquées sur l'animal ont donné pour la plupart des résultats négatifs. Toutefois, le Centre international de recherche sur le cancer a retenu deux études expérimentales chez le rat qui ont déclenché des cancers. Mais, aussi bien pour les études négatives que positives, des insuffisances de méthodologie ont été mises en évidence ; en particulier, il a été négligé de considérer l'exposition simultanée à d'autres cancérogènes ou co-cancérogènes, comme le tabac. Les données disponibles sur les effets mutagènes sont également contradictoires.

Du fait de l'accumulation de l'arsenic dans l'organisme, de sa toxicité à faible dose et de son éventuelle action cancérogène, les teneurs limites sont sévères. Étant donné les risques de cancers cutanés, l'OMS recommande une valeur guide provisoire de 0,01 mg/L pour l'eau destinée à la consommation humaine. Les directives du Conseil des communautés euro-péennes et la réglementation française fixent une valeur limite de 0,01 mg/L.

Des quantités supérieures peuvent cependant être absorbées puisque dans certaines régions minières, la consommation d'eau contenant 0,40 mg/L est sans incidents particuliers.

En ce qui concerne la vie aquatique, des teneurs supérieures à 2 mg/L peuvent déclencher des phénomènes toxiques chez certaines espèces de poissons et l'arsenic peut se fixer dans les coquillages jusqu'à 200 mg/kg. Il faut également noter l'effet phytotoxique de l'arsenic vis-à-vis de certaines plantes, lorsque, par exemple, il se substitue au phosphore dans les composés cellulaires.

Les traitements habituels de floculation des eaux, et en particulier les traitements par le chlorure ferrique précédés d'une oxydation par le chlore ou par l'ozone, peuvent permettre d'éliminer une grande partie de l'arsenic présent dans l'eau brute.

Azote (diazote dissous)

Le diazote N_2 qui est un constituant majeur de l'atmosphère (78 %) joue un rôle essentiel dans la biosphère. Les différentes formes minérales (ammoniac, nitrites, nitrates) et organiques (acides aminés, protéines) font l'objet d'échanges réversibles incessants. Les différentes étapes du cycle d'azote : fixation atmosphérique, assimilation, ammonification, nitrification, dénitrification, sont régies par des phénomènes biologiques impliquant des bactéries, plantes ou champignons, ainsi que l'intervention de catalyseurs enzymatiques. Les différentes formes susceptibles de se trouver dans la nature font l'objet de paragraphes particuliers (azote Kjeldahl et ammoniacal, nitrites, nitrates, etc.). En ce qui concerne le diazote dissous dans l'eau, il faut savoir que la sursaturation en diazote est susceptible de se développer dans les cascades naturelles ou les chutes d'eau de barrages ; ainsi, il a pu

être relevé des sursaturations de 140 % à 50 km en aval de barrages importants. Cette sursaturation en diazote, indépendamment du fait qu'elle gêne la saturation en oxygène, peut entraîner, lorsqu'elle dépasse 110 %, une mortalité importante des poissons dans les cours d'eau et dans les bassins de pisciculture.

Azote ammoniacal (ou Ammonium)

L'habitude a été prise de désigner sous le vocable ammoniaque des formes ionisées (NH_4^+) et non ionisées (NH_3). L'azote ammoniacal (cf. § A-7.3 et A-9.6) est assez souvent rencontré dans les eaux et traduit habituellement un processus de dégradation incomplète de la matière organique.

Immédiatement en aval des foyers de pollution, on trouve souvent des teneurs de l'ordre de 0,5 à 1 mg/L tandis que les teneurs en nitrites et en nitrates sont relativement faibles. Plus en aval, les teneurs en azote ammoniacal diminuent et celles des nitrites puis des nitrates augmentent. D'une façon générale, l'ammoniaque se transforme assez rapidement en nitrites et nitrates par oxydation.

L'azote ammoniacal des eaux superficielles peut avoir pour origine la matière végétale des cours d'eau, la matière organique animale ou humaine (l'homme élimine 15 à 30 g d'urée par jour), les rejets industriels, les engrais, etc. Sa présence est à rapprocher des autres éléments azotés identifiés dans l'eau : nitrites et nitrates, et des résultats de l'analyse bactériologique. Les eaux usées après traitement contiennent habituellement de l'ammoniaque dont la teneur varie suivant le procédé adopté et qui contribue à la consommation de l'oxygène dissous dans l'eau.

L'ammoniaque peut être rencontrée dans les eaux météoriques (0,1 à 2 mg/L) et dans celles provenant de sols tourbeux et marécageux ; dans ce dernier cas elle a une origine purement végétale. Des eaux profondes peuvent également se charger en ammoniaque par réduction des nitrates sous l'action des bactéries autotrophes ou par les ions ferreux.

L'oxydation biologique de l'ammoniaque peut développer des zones anaérobies dans certaines parties des réseaux de distribution et entraîner ainsi des goûts désagréables et provoquer la corrosion des conduites, notamment en cuivre. L'ammoniaque présente aussi l'inconvénient de nécessiter une augmentation de la consommation en chlore lors de la désinfection et de produire des composés organochlorés indésirables (chloramines minérales ou organiques). Pratiquement, par milligramme d'azote d'origine ammoniacale, il faut environ 10 mg de chlore pour former les chloramines et les décomposer en azote gazeux.

L'élimination de l'ammoniaque pour la production d'eau potable peut se faire par les échangeurs d'ions, l'oxydation et la nitrification biologique. L'échange d'ions sur un zéolithe naturel (la clinoptilolite) est envisageable mais très coûteuse. L'oxydation par le chlore permet d'éliminer l'azote ammoniacal si la dose de chlore appliquée est supérieure au break-point (point de rupture), mais la formation concomitante de composés organohalogénés indésirables (trihalométhanes, AOX) oblige à limiter l'usage de

cette méthode aux seules eaux qui contiennent peu de composés organiques susceptibles de conduire à la formation de composés organohalogénés. Les autres oxydants (ozone, dioxyde de chlore, chloramines) demeurent peu efficaces pour l'élimination de l'azote ammoniacal. C'est donc l'élimination par voie biologique (nitrification) qui est le plus souvent mise en œuvre. Elle consiste à faire percoler l'eau sur un matériau filtrant granulaire (sable, charbon actif, biolite, pouzzolane) sur lequel se développent les bactéries qui oxydent biologiquement l'azote ammoniacal en ions nitrite, puis en nitrates. La croissance des bactéries fixées sur le matériau est entretenue par apport d'une quantité suffisante d'oxygène et de nutriments (phosphore en particulier), par un *p*H adapté (*p*H > 7,5), une température favorable (>10 °C) et une concentration suffisante en carbone minéral (hydrogénocarbonate) nécessaire à ces organismes autotrophes.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (goût, odeur), l'OMS recommande comme valeur limite pour l'ammonium 1,5 mg/L.

Conformément à la réglementation française, le France fixe pour les ions ammonium une référence de qualité de 0,1 mg/L. Si l'origine naturelle de l'ammonium peut être démontrée, la valeur à respecter peut être portée à 0,5 mg/L pour les eaux souterraines.

En ce qui concerne la toxicité de l'ammoniaque pour la faune piscicole d'eau douce, il est reconnu que ce n'est pas la forme ammoniaque ionisé (NH_4^+) qui est toxique mais la forme ammoniaque non ionisée (NH_3) dont la proportion dépend du *p*H et de la température. Elle peut être calculée à partir de la formule suivante.

$$NH_3 = NH_4^+ \times \frac{1}{1 + 10^{(10 - pH - 0{,}03\,t)}}$$

Le seuil de sensibilité à long terme quelle que soit la vie piscicole serait de 0,3 mg/L de NH_3 . La toxicité s'élève rapidement et devient aiguë selon les espèces entre 0,6 et 1,5 mg/L, les salmonidés étant les plus sensibles. En dessous d'une concentration de 0,1 mg/L, il ne se passe généralement rien mais le seuil de sécurité devrait se situer aux environs de 0,02 à 0,04 mg/L de NH_3 .

L'élévation de température diminue légèrement la toxicité, par contre les fortes teneurs en CO_2 et les faibles teneurs en oxygène l'accroissent. La présence permanente d'ammoniaque à faible dose crée une certaine accoutumance des poissons à la toxicité. Par contre, l'exposition répétée avec des intervalles de temps courts peut conduire à une toxicité cumulative, l'élimination à partir de l'organisme étant très lente. La directive du Conseil des communautés européennes du 18 juillet 1978 concernant la qualité des eaux douces aptes à la vie des poissons fixe un certain nombre de valeurs pour ce paramètre (*voir* tableau ci-après).

Le brassage des vases des cours d'eau peut entraîner la libération d'eaux interstitielles très riches en ammoniaque.

Du point de vue de la corrosion du cuivre, la présence d'ammoniaque renforce l'effet de l'oxygène en raison de la stabilité du complexe formé avec le métal ; le traitement par le chromate ou un mélange de chromate et de polyphosphates constitue une protection satisfaisante.

Pour le conditionnement de l'eau des circuits de vapeur, l'ammoniaque remplace souvent le phosphate de sodium. Son avantage est de constituer un conditionnement volatil et d'éviter l'introduction de produits solides (anions phosphates et cations sodium). Le traitement a aussi l'avantage de maintenir le *p*H dans une fourchette plus étroite (de 8,8 à 9,2) au lieu de 8,5 à 10,6. Dans les générateurs de vapeur haute pression, l'ammoniaque peut provenir de la décomposition de l'hydrazine utilisée comme anti-oxydant.

Tableau extrait de la directive du Conseil des communautés européennes du 18 juillet 1978

	Eaux salmonicoles		Eaux cyprinicoles		Observations
	G	I	G	I	
Ammoniac non ionisé (mg/L NH_3)	< 0,005	< 0,025	< 0,005	< 0,025	Les valeurs pour l'ammoniac non ionisé peuvent être dépassées, à condition qu'il s'agisse de pointes peu importantes apparaissant pendant la journée.
Afin de diminuer le risque d'une toxicité dû à l'ammoniac non ionisé d'une consommation d'oxygène due à la nitrification et d'une eutrophisation, les concentrations d'ammonium total ne devraient pas dépasser les valeurs suivantes :					
Ammonium total (mg/L NH_4)	< 0,04	< 1 (*)	< 0,2	< 1 (*)	

(*) Dans des conditions géographiques ou climatologiques particulières et notamment dans le cas de températures d'eaux basses et de nitrification réduite, ou lorsque l'autorité compétente peut prouver qu'il n'y a pas de conséquences nuisibles pour le développement équilibré des peuplements de poissons, les États membres peuvent fixer des valeurs supérieures à 1 mg/L.
G : guide.
I : impérative.

Azote Kjeldahl (NK)

Comme cela est indiqué à propos de la méthode de dosage (cf. § A-9.6), l'azote Kjeldahl ne représente pas la totalité de l'azote mais seulement l'ensemble de ses formes réduites organiques et ammoniacales. L'azote

peut exister aussi sous forme d'azote nitreux et nitrique indépendamment de l'azote gazeux (forme neutre). Dans les lacs, la fixation de l'azote atmosphérique grâce à certaines algues et bactéries peut avoir un caractère significatif. Les eaux de pluies sont aussi susceptibles de transporter différentes substances azotées (ammoniaque, oxyde d'azote, etc.).

L'origine de l'azote dans les eaux superficielles serait liée au lessivage des sols enrichis en engrais azotés, aux rejets urbains ou industriels. Les consommations d'azote pour les usages agricoles sont considérables et avoisinent en France deux millions de tonnes. La forme ammoniacale est assez fortement absorbée sur le complexe échangeur de cations du sol sauf en sols calcaires, par contre les nitrates sont très mobiles et sont donc facilement lessivés. Le problème se complique du fait de la nitrification permanente de l'azote ammoniacal.

En ce qui concerne les rejets urbains d'origine humaine, l'azote provient principalement des urines, les selles ne représentant qu'environ le dixième de la quantité totale éliminée. L'évacuation urinaire journalière est constituée par 15 à 30 g d'urée, 0,40 à 0,80 g d'acide urique, 0,14 à 0,50 g d'azote ammoniacal, 0,15 à 0,30 g de créatine, 1,70 à 2,10 g de créatinine. Pratiquement, pour un adulte ayant un régime mixte, la quantité d'azote éliminée par 24 heures varie de 10 à 20 g dont 80 % sont représentés par de l'azote uréique. Très rapidement, la majeure partie de ces composés s'hydrolyse en donnant de l'ammoniaque. Les concentrations des eaux usées urbaines peuvent varier entre 30 et 100 mg/L dont 60 % d'azote ammoniacal et 40 % d'azote organique.

L'azote d'origine industrielle provient non seulement d'industries chimiques (papier, textile, acier, etc.) mais aussi d'installations agro-alimentaires (brasseries, abattoirs, sucreries, etc.). Il en résulte que suivant les régions et les villes, la part respective due aux rejets domestiques, industriels et agricoles, pour la pollution des eaux superficielles, sera extrêmement variable. Ces dernières années, il a été noté un net accroissement de la pollution azotée dans les eaux de surface et les eaux souterraines et ceci quelle qu'en soit l'origine.

Dans la pratique, l'azote Kjeldahl est un indicateur de pollution du milieu et son contrôle permet de suivre l'évolution des contaminations.

À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme teneur de l'azote Kjeldahl dans l'eau destinée à la consommation humaine une concentration maximale admissible de 1 mg/L ; l'ancienne réglementation française recommandait cette même valeur limite. Pour les eaux douces superficielles destinées à la production d'eau destinée à la consommation humaine, la réglementation française demande le respect de valeurs guides variant de 1 à 3 mg/L selon les traitements mis en œuvre (groupe A1 à A3). Une enquête du ministère de la Santé réalisée en France en 1993 a montré que 2,4 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuaient une eau dont la teneur maximale en azote Kjeldahl était supérieure ou égale à 1 mg/L.

Les traitements habituels de potabilisation (coagulation, floculation, filtration, etc.) permettent, sauf cas très particuliers, une élimination satisfaisante des composés azotés.

Voir aussi Azote ammoniacal.

Baryum

Le baryum (cf. § A-7.7), que l'on trouve dans la nature sous forme de sulfate (barytine, hépatite, spath lourd) ou de carbonate (whiterite), appartient au groupe des alcalino-terreux auxquels il est souvent associé. Il est utilisé dans l'industrie (photographie, céramique, verrerie, peinture, caoutchouc, etc.) ; le sulfate de baryum est assez largement employé comme opacifiant dans les explorations radiologiques.

Les quantités susceptibles d'être trouvées naturellement dans l'eau varient de quelques µg à quelques centaines de µg/L. Ces faibles quantités sont dues à la très faible solubilité du sulfate de baryum ; celle-ci est cependant susceptible de s'accroître en présence de chlorures et d'autres anions. Pratiquement, le baryum ne peut exister naturellement dans l'eau qu'à l'état de carbonate, sa présence étant incompatible avec l'ion sulfate pour des teneurs supérieures à 1 mg/L. Dans le traitement des minerais d'uranium, le sulfate de baryum joue le rôle d'entraîneur pour la précipitation du radium, lors de sa séparation des eaux résiduaires.

Le métabolisme du baryum est similaire à celui du calcium. L'élimination du baryum est plus importante dans les fèces que dans les urines.

L'appareil digestif est très perméable au baryum et permet un transfert rapide dans la circulation générale.

La toxicité des sels de baryum est liée à leur solubilité qui introduit la résorption digestive et la biodisponibilité. Les sels plus toxiques sont les chlorures, les nitrates, les carbonates ; la dose mortelle de chlorure de baryum approche le gramme. Le baryum constitue un poison de la cellule musculaire avec une action particulière sur le muscle cardiaque et les parois vasculaires. Lors des intoxications aiguës, les premiers troubles sont d'origine digestive (diarrhée, vomissements, etc.).

L'OMS indique, pour l'eau destinée à la consommation humaine, une valeur guide de 0,7 mg/L alors que les directives du Conseil des communautés européennes ne considèrent pas ce paramètre. Toutefois, la réglementation française l'inclut dans les limites de qualité avec une valeur de 0,7 mg/L.

Du point de vue hygiène industrielle, la quantité journalière absorbée par inhalation ne devrait pas dépasser 5 mg. Sur cette base, il est raisonnable de penser qu'une concentration de 1 mg/L serait acceptable. Il n'existe pas cependant d'études sur les effets à long terme de l'ingestion de faibles doses de baryum.

Benzène

Voir Hydrocarbures benzéniques.

Béryllium

Le béryllium (cf. § A-7.8), autrefois appelé glucinium, est présent dans une quarantaine de minerais ; il est extrait plus particulièrement du béryl ($Be_3Al_2Si_6O_{18}$) et de la bertrandite. On le trouve dans les roches volcaniques, le charbon, à raison de quelques milligrammes par kilogramme. À l'état naturel, il existe plusieurs isotopes instables, le ^{7}Be (période 53,2 jours) et le ^{10}Be (période 2,5 . 10 ^{6} ans). Ils sont produits dans l'atmosphère lors de l'interaction des rayonnements cosmiques avec les noyaux des éléments de l'atmosphère et de particules diverses. Chadwick découvrit le neutron en utilisant la réaction :

$$^{9}_{4}\mathrm{Be} + ^{4}_{2}\alpha \rightarrow ^{12}_{6}\mathrm{C} + ^{1}_{0}n$$

Les sources de radium-béryllium sont employées en laboratoire comme sources de neutrons.

Le béryllium possède de bonnes propriétés mécaniques, un point de fusion élevé, une bonne conductivité thermique et électrique, une basse densité et une grande élasticité. Étant donné ces qualités, les usages du béryllium sont extrêmement variés : alliages avec le cuivre, le nickel, l'aluminium, le magnésium (industrie électrique et aéronautique), verrerie d'art, céramique, poudres fluorescentes, énergie atomique (ralentisseur de neutrons). Plus récemment, son emploi s'est développé dans les alliages de prothèse dentaire pour améliorer la tenue mécanique et la liaison du métal avec la céramique. Sa présence dans les eaux résiduaires (à des teneurs de l'ordre de quelques dizaines de microgrammes par litre) provient du lavage des installations de métallurgie et de chimie du béryllium. Le sulfate et le chlorure de béryllium sont solubles dans l'eau mais ils s'hydrolysent rapidement en donnant un hydroxyde relativement peu soluble pour les valeurs habituelles du *p*H de l'eau potable. De plus, l'adsorption par le calcium et d'autres éléments minéraux naturels est vraisemblablement aussi une des raisons des basses concentrations trouvées dans l'eau. Il a pu être relevé dans certaines eaux de distribution des teneurs de l'ordre de 0,3 µg/L. Il ne semble pas que le béryllium qui est faiblement absorbé par le tractus gastro-intestinal soit dangereux par cette voie. Par contre, il est très toxique par voie respiratoire, et accessoirement par voie cutanée. Le béryllium et ses composés s'avèrent mutagènes. Le Centre international de recherche sur le cancer l'a classé comme un cancérogène probable pour l'homme. Le risque tératogène reste à démontrer.

L'OMS, les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française n'indiquent pas de valeur limite dans l'eau. Les normes russes, excessivement sévères, indiquent comme limite 0,2 µg/L dans les eaux de surface. Dans l'industrie, les rejets d'eaux résiduaires devraient être limités à 0,1 mg/L.

Bismuth

Le bismuth (cf. § A-7.9) est très peu soluble ; dans les eaux naturelles, il est généralement présent à l'état de traces, à des teneurs inférieures à 10 µg/L.

Des concentrations plus élevées peuvent se rencontrer dans des zones fortement minéralisées.

Bore (Borate)

Le bore (cf. A-7.10) se retrouve dans l'environnement à des teneurs pouvant varier de 0,3 à 10 mg/kg dans le sol et de 0,4 à 3 mg/L dans l'eau douce ; l'eau de mer en contient environ 5 mg/L. C'est un métalloïde très dur extrait des minerais de borax et de rosorite. Dans la nature, il n'existe pas à l'état élémentaire ; il peut se présenter sous forme d'acide borique, de borates et de polyborates, de boranes ou hydrures de bore (diborane, pentaborane, décaborane). Il est employé en métallurgie comme désoxydant ou en alliage avec d'autres métaux et dans l'industrie nucléaire, comme absorbant de neutrons. Dans les réacteurs nucléaires à eau pressurisée, la teneur en acide borique utilisée pour le contrôle de la réaction neutronique peut varier de 12 000 mg/L (réacteur à l'arrêt) à une teneur presque nulle, la valeur moyenne étant de 3 000 mg/L. Bien qu'il s'agisse d'un acide faible, il est susceptible d'accroître le taux de corrosion des aciers dans ces installations. L'acide borique est aussi utilisé comme antiseptique non irritant pour la peau et les muqueuses oculaires et en ORL. Les borates s'emploient dans l'industrie du verre et de la céramique, ils entrent dans la fabrication de cosmétiques, peintures produits phytosanitaires (engrais, herbicides, insecticides, traitement du bois), dans la composition d'agents de blanchiment et dans les lessives (perborates).

Les hydrures de bore sont utilisés pour la propulsion des fusées et comme accélérateurs de polymérisation dans l'industrie des parfums et l'industrie pharmaceutique. L'apport alimentaire journalier serait de quelques milligrammes, les aliments en contiennent généralement moins de 6 mg/kg et souvent moins de 0,5 mg/kg (viandes, poissons). L'intoxication aiguë par le bore et les borates qui se manifeste par des troubles digestifs, neurologiques et un collapsus est exceptionnelle ; l'exposition à long terme pourrait causer une atrophie testiculaire. La dose létale a été estimée à 3 g chez le nourrisson, 15 g chez l'adulte. L'excrétion est surtout urinaire. La toxicité des dérivés borés est très variable. Les dérivés halogénés sont irritants, les hydrures de bore sont très toxiques par voie digestive, respiratoire ou cutanée. Le bore n'est pas considéré comme mutagène ou cancérogène.

Le bore peut se retrouver dans les eaux de distribution, mais il est plus fréquent de le retrouver dans les eaux résiduaires urbaines et industrielles. Des quantités de l'ordre du milligramme par litre ne présentent pas d'inconvénients ; au-delà, elles doivent être considérées avec circonspection étant donné l'affinité importante du bore pour le système nerveux.

L'OMS indique une dose journalière admissible d'environ 6 mg pour un adulte de 70 kg. Dans l'eau destinée à la consommation humaine elle recommande une valeur limite de 0,3 mg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française l'incluent dans les limites de qualité avec une valeur de 1 mg/L.

Le bore joue un rôle important dans la physiologie des végétaux, pour le développement des racines et l'intégrité des membranes des plantes. Dans l'eau d'irrigation, des teneurs supérieures à 2 mg/L peuvent conduire à des effets délétères pour les plantes ; des concentrations aussi faibles que 1 mg/L sont susceptibles d'altérer les cultures en serres et en particulier les agrumes.

Brome (bromures)

Le brome (cf. § A-7.12) est présent dans la lithosphère à un taux de 0,001 %. Sauf cas particuliers, les eaux de surface ne contiennent habituellement que peu de brome : les concentrations varient entre 0,05 et 0,2 mg/L. Les nappes souterraines du crétacé seraient les plus riches en bromures. Des teneurs élevées peuvent être rencontrées dans les eaux de nappes des régions côtières et dans les eaux d'origine profonde (forages) qui peuvent en contenir jusqu'à 5 à 6 mg/L. D'une façon générale, les chlorures et bromures sont très souvent associés, dans un rapport de 2,5 μg de brome pour 1 mg de chlore. Les eaux minérales peuvent avoir des teneurs très variables : Évian 0,01 mg/L, Vittel : 0,024 mg/L, Volvic : 0,013 mg/L, les eaux de Vichy (Grande Grille et Hôpital) ont des teneurs de l'ordre de 1 mg/L. En France, ce sont les eaux du Boulou qui sont parmi les plus riches en bromures : 2,18 mg/L. Les eaux minérales de la province de Gerona en Espagne (Malavella, Vichy Catalan) ont des teneurs de l'ordre de 2,5 mg/L. Des teneurs élevées dans les eaux de surface peuvent être liées à des pollutions d'origine industrielle (fabrication du chlore et de la soude).

L'action bactéricide du brome est utilisée pour le traitement des eaux de piscine. Dans l'eau, le brome est susceptible de donner des dérivés organo bromés, en particulier des trihalogénométhanes bromés.

L'ion bromure (Br^-) réagissant avec l'acide hypochloreux (HOCl), les bromures interfèrent sur l'action du chlore notamment en réagissant très fortement avec les matières organiques naturelles pour former des composés organo-bromés et mixtes chlorés et bromés. La décontamination microbienne des eaux usées, préalablement traitées biologiquement, pratiquée avec des doses de brome de l'ordre de 5 à 8 mg/L conduit habituellement à un abattement de 4 unités logarithmiques du nombre de germes fécaux.

Bien que l'on ne dispose pas de valeurs sur le seuil de non-toxicité du brome résiduel dans le milieu récepteur, il est reconnu que la bromation des eaux usées serait moins toxique pour le milieu récepteur que la chloration.

Le traitement de purification du sel marin fait qu'environ 90 % des bromures se retrouvent dans les résidus. Les épandages de chlorure de calcium et de sel pour l'entretien des routes l'hiver vont aussi contribuer à la pollution des eaux superficielles en bromures. Dans les eaux usées, l'apport en bromure serait de l'ordre de 10 mg par habitant et par jour. Certains végétaux et algues sont susceptibles de concentrer les bromures.

Bromates

Le bromate de potassium ($KBrO_3$) est présent dans certains produits alimentaires comme la farine, des pâtes à poisson, le malte de bière, des fromages et dans certains produits utilisés dans les salons de coiffure (permanentes). Lors de la cuisson des aliments (pain, pâtisserie…), la présence de bromate dans la farine est très atténuée par l'action de la chaleur qui conduit à sa transformation thermique en bromure.

Fin des années 80, il a été démontré par une équipe japonaise (plusieurs études) que le bromate de potassium est un cancérogène génotoxique provoquant chez le rat mâle des tumeurs rénales, des mésothéliomes du péritoine et des tumeurs de la thyroïde Une étude nord-américaine plus récente (fin des années 90) a confirmé ces résultats et souligne également un effet carcinogène rénal chez la souris mâle et chez les rongeurs en général, pour des teneurs dans l'eau aussi faibles que 20 µg/L (correspondant à des doses d'alimentation des animaux de 1,5 mg/kg/jour pendant 100 semaines).

L'ion bromate est également mutagène au regard des résultats des tests microbiens, d'aberrations chromosomiques et des tests micronoyaux.

Chez l'homme, le peu de cas observés révèle que la toxicité de l'ion bromate est survenue suite à une ingestion estimée à une valeur assez basse de 5 mg/kg de poids de corps. Un cas mortel a résulté d'une ingestion d'une solution contenant 12 g de $KBrO_3$. En intoxication aiguë, le bromate de potassium engendre des lésions du rein et une perte de l'ouïe.

Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a estimé la concentration maximale admissible dans les eaux destinées à la consommation à 3 µg/L (risque 10^{-6}), ce qui a conduit l'OMS à émettre une recommandation de 25 µg/L. Compte tenu d'une part de la nécessité de désinfecter les eaux destinées à la production d'eau potable (dont certaines avec l'ozone) et compte tenu des limites de détection analytique (fin des années 90), le Conseil de l'Union Européenne, puis la France, ont introduit progressivement le paramètre bromate dans les limites de qualité avec une valeur de 25 µg/L (à compter du 25/12/2004) puis de 10 µg/L (25/12/2008).

Sauf en cas pollution, les eaux brutes ne contiennent pas naturellement d'ions bromates. Plusieurs études ont montré fin des années 90 que les teneurs en bromates dans les eaux naturelles destinées à la production d'eau potable est (à quelques très rares cas près) toujours inférieure à 2 µg/L.

Dans la plupart des cas, la présence des bromates dans les eaux destinées à la consommation est due aux étapes de désinfection, notamment l'ozonation. L'ion bromure (naturellement présent dans les eaux naturelles (cf. ci-dessus) est relativement facilement oxydé en ion hypobromite par l'ozone, puis, dans certaines conditions, en ion bromate. Les conditions qui favorisent la formation de bromate dans les eaux destinées à la consommation humaine sont principalement les suivantes :

– une concentration significativement élevée en bromure (plusieurs dizaines de µg/L) dans l'eau à ozoner (Le potentiel de formation de bromate est évidemment d'autant plus élevé que la présence d'ions bromure est elle-même élevée) ;

– un fort taux d'ozone appliqué et/ou un temps de contact élevé entre l'ozone résiduel et l'eau (C'est en fait la valeur du paramètre « C. t », tel que décrit en A-13.1, qui est important. Plus cette valeur est élevée, plus la formation de bromates est importante) ;

– une valeur élevée du *p*H de l'eau pendant l'ozonation (Entre *p*H 6,5 et *p*H 8, par exemple, la formation de bromates peut être quintuplée, toutes autres conditions équivalentes) ;

– une température élevée de l'eau à ozoner (de 2 °C à 20 °C, la formation de bromates sera doublée).

Cette présence de bromates peut également être due à la désinfection à l'hypochlorite de sodium. En effet, certaines solutions d'hypochlorite de sodium peuvent contenir des teneurs élevées en bromates, supérieures à 150 mg/L, qui est la concentration dans l'Eau de Javel au-dessus de laquelle on peut considérer qu'il y a un risque d'introduire des bromates dans l'eau désinfectée.

La seule méthode disponible pour doser l'ion bromate à quelques µg/L est la méthode par chromatographie ionique avec de nombreuses adaptations (cf. § A-7.11). D'autres méthodes ont été développées dans la littérature mais aucune n'est utilisée en routine avec une aussi bonne sensibilité.

Cadmium

Dans la nature (minerais, sols) le cadmium (cf. § A-7.13) est généralement associé au zinc ; il est utilisé pour le revêtement électrolytique des métaux, dans certains alliages, pour la fabrication d'accumulateurs, de peintures et de matières plastiques, et dans l'industrie nucléaire (ralentisseur de neutrons). D'une façon générale, les eaux ne contiennent que quelques microgrammes de cadmium par litre. Lorsque des teneurs plus élevées sont rencontrées dans les eaux superficielles ou les eaux de nappes phréatiques, l'origine du cadmium doit être recherchée dans les effluents industriels (galvanoplastie, en particulier). Le cadmium peut aussi être entraîné par les pluies à partir des fumées industrielles. Il peut aussi provenir de sa dissolution à partir de certaines canalisations galvanisées ou en matière plastique. En dehors des expositions professionnelles, la source principale du cadmium dans l'organisme est d'origine alimentaire. Ce métal peut provenir de sa solubilisation par les acides des substances alimentaires à partir de poteries vernissées, de boîtes de conserves et d'ustensiles de cuisine galvanisés (le zinc pouvant contenir jusqu'à 1 % de cadmium). De plus, la présence de cadmium comme contaminant dans les engrais et les boues des stations d'épuration utilisées en agriculture peut contribuer à un accroissement de la pollution de la ration alimentaire. L'ingestion journalière totale de cadmium à partir de l'air, de l'eau, de la nourriture et des cigarettes varie de 40 µg/j pour les sujets faiblement exposés (ruraux non fumeurs) à 190 µg/j (citadins des villes industrielles fumeurs). Chez les fumeurs de 20 cigarettes par jour, la dose inhalée serait de 2 à 4 µg. L'absorption à partir du tractus digestif est d'environ 10 % de la quantité ingérée. Ce pourcentage est susceptible de varier en fonction de la teneur de l'alimentation en calcium, en protéines… et de l'âge.

L'ingestion quotidienne d'une dose supérieure au milligramme est susceptible d'entraîner une intoxication. Le cadmium s'accumule principalement dans le foie et dans les reins sous forme de métallothionéine ; le cortex rénal peut contenir le tiers de la charge corporelle totale. L'élimination par les urines est très faible (de 1 à 9 µg/j) et la période biologique varie de 16 à 33 ans. Sa toxicité relativement élevée avec effet cumulatif s'accompagne de troubles rénaux, d'altérations osseuses et d'hypertension artérielle ; si le pouvoir cancérogène du cadmium est bien démontré chez le rat exposé par inhalation, les données épidémiologiques recueillies jusqu'à présent ne permettent pas d'établir de façon probante par voie orale une action cancérogène chez l'homme. L'action possible du cadmium sur le métabolisme de la vitamine D nécessite encore des études complémentaires.

Les enquêtes épidémiologiques ont paru associer le cadmium à un syndrome toxique dénommé « Itai Itai » et caractérisé par une décalcification osseuse, une protéinurie et une glucosurie. Cette maladie est apparue au Japon chez des femmes vivant au bord d'une rivière située en aval d'une mine de zinc et qui consommaient une eau de boisson et du riz fortement contaminés par des rejets de cadmium provenant de la mine. Le niveau critique de cadmium dans le cortex rénal est d'environ 200 mg/kg, le niveau « normal » se situant entre 25 et 100 mg/kg pour un homme de 50 ans. Le zinc et le calcium auraient un rôle protecteur vis-à-vis du cadmium, la déficience de l'organisme en ces éléments constituerait une prédisposition à l'intoxication. Le Comité d'experts FAO/OMS a établi (1972) que l'exposition de l'homme au cadmium à partir de la nourriture, de l'eau et de l'air ne devrait pas dépasser 400 à 500 µg par semaine. Le codex alimentaire propose les limites suivantes : 0,1 mg/kg pour les légumes ; 0,05 mg/kg pour les céréales et produits dérivés. Pour les eaux destinées à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur limite de 3 µg/L ; les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française fixent une valeur limite de 5 µg/L.

Pour la vie aquatique, en particulier pour le poisson, il ne semble pas qu'il y ait de problèmes en dessous de 1 mg/L, sauf pour certaines espèces où la toxicité apparaît à partir de 200 µg/L. Des concentrations élevées peuvent être rencontrées chez les mollusques et des crustacés d'estuaires contaminés (10 mg/kg).

En présence d'une pollution aquifère, tous les produits végétaux semblent concentrer le cadmium sans limite ni seuil. Ce phénomène est particulièrement remarquable chez certains champignons du genre *Agaricus* ; ainsi, l'*Agaricus campestris* (champignon de couche) peut concentrer le cadmium jusqu'à 20 ou 30 µg/kg.

Il y a donc un intérêt certain de limiter les rejets de cadmium dans le milieu aqueux et atmosphérique et de se préoccuper attentivement de l'épandage des boues de traitement des eaux usées. Les traitements habituels des eaux, notamment la précipitation et l'échange d'ions, permettent une élimination importante du cadmium.

Calcium

Le calcium est un métal alcalino terreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches calcaires sous forme de carbonates.

Composant majeur de la dureté de l'eau (cf. § A-5.9), le calcium (cf. § A-7.14) est généralement l'élément dominant des eaux potables. Sa teneur varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, chlorures, etc. les eaux de pluies, de citernes n'en referment que des traces. Certaines eaux minérales en contiennent plusieurs centaines de milligrammes par litre (ex. les eaux thermominérales de Vittel, Contrexéville, Saint-Gervais, Capvern, Bride, etc.).

L'oxyde de calcium est très largement utilisé dans le bâtiment, les papeteries, le traitement des eaux, etc. Les opérations de neutralisation, en particulier dans les eaux résiduaires industrielles contribuent à des rejets significatifs dans le milieu.

L'influence du calcium de l'eau sur la santé de l'individu a été souvent discutée. Cependant, les recherches et les études statistiques ont montré qu'il n'y aurait pas de relation dose-effet avec la teneur de cet élément dans l'eau. La charge calcique de l'homme standard est d'environ 1 200 g dont 99 % se trouvent dans le squelette, le reste, partiellement ionisé, se répartit dans les liquides organiques. En raison de la régénération des tissus, 700 à 800 mg sont éliminés chaque jour, dont 200 à 400 mg par les matières fécales et 100 à 300 mg par les urines. Les quantités susceptibles d'être ingérées sous forme de boisson sont inférieures aux quantités nécessaires à l'organisme, estimées approximativement entre 700 et 900 mg/j ; de plus, le calcium de l'eau n'est que peu absorbé par l'intestin. En fait, l'apport est surtout alimentaire (lait : 1,25 g/L ; fromage : de 1,5 à 10 g/kg ; viande : 150 mg/kg ; poisson : 300 mg/kg ; pain : 200 mg/kg ; légumes verts et fruits : 400 mg/kg). Le calcium absorbé est solubilisé dans l'estomac sous forme de chlorure puis incorporé dans la circulation générale au niveau du duodénum. La prévention de l'ostéoporose se situerait autour de 1 500 mg de calcium par jour.

Les eaux potables de bonne qualité renferment de 100 à 140 mg/L de calcium soit 150 à 200 mg en CaO ou 250 à 350 mg en $CaCO_3$.

En dehors de certaines manifestations gustatives, les eaux qui dépassent 200 mg/L de calcium présentent de sérieux inconvénients pour les usages domestiques et pour l'alimentation des chaudières.

À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme teneur du calcium dans l'eau destinée à la consommation humaine un niveau guide de 100 mg/L. Elles précisaient aussi une concentration minimale requise de 60 mg/L de calcium ou cations équivalents pour l'eau livrée à la consommation humaine et ayant subi un traitement d'adoucissement.

L'ancienne réglementation française prévoyait des contrôles complémentaires dans le cas où la teneur dépasse la valeur de référence de qualité fixée à 100 mg/L. L'adoucissement de l'eau peut utiliser des résines échangeuses cationiques, des traitements à la chaux ou à la soude qui conduisent à une

précipitation de carbonate de calcium. L'injection de polyphosphates ou les traitements électro-magnétiques peuvent limiter la précipitation du dépôt calcaire.

La productivité des eaux douces est assez nettement liée à la teneur en sels de calcium et de magnésium ; son maximum correspondrait à une alcalinité totale en calcium de 25 mg/L. *Voir aussi* Dureté totale, Hydrotimétrie.

Carbone organique total

Dans les eaux naturelles, la teneur en carbone organique varie généralement entre 1 et 10 mg/L, avec des teneurs influencées par le climat et les saisons, ainsi que par la nature du sol et de la végétation. Des teneurs plus élevées (jusqu'à environ 15 à 20 mg/L) peuvent être rencontrées dans les réservoirs naturels ou artificiels (lacs, retenues, eaux de barrages). Sa présence est associée pour la majeure partie à des composés naturels (substances humiques) alors que les polluants organiques liés aux activités anthropiques sont minoritaires (moins de 1 % dans la majorité des cas).

Constitué d'une grande diversité de matières organiques, présentes à des concentrations très variables, le carbone organique peut comporter une fraction particulaire (Carbone Organique Particulaire ou COP, éliminé par filtration sur 0,45 µm). Mais la majeure partie (environ 90 %) est représentée par la fraction dissoute (Carbone Organique Dissous ou COD). Quelques composés volatils ou semi-volatils peuvent également être présents.

Le dosage du carbone organique (cf. § A-9.4) ne donne aucune indication sur les composés organiques présents dans l'eau. Ce paramètre n'a en fait qu'une valeur limitée pour évaluer un risque pour la santé publique ; son intérêt réside dans le fait qu'il peut permettre de suivre l'évolution d'une pollution organique dans le milieu aqueux et d'aider au contrôle des différentes étapes de l'approvisionnement en eau.

Il existe souvent une bonne relation entre le COD des eaux et d'autres paramètres globaux de pollution (absorbance UV et indice permanganate). Pour l'absorbance UV à 254 nm, la relation dépend fortement de la nature des eaux et de leur niveau de traitement. Pour les eaux de rivières, le rapport UV/COD est de l'ordre de 0,03 à 0,04, l'absorbance UV étant déterminée à 254 nm avec des cuves d'un trajet optique de 1 cm. Pour l'indice permanganate (IP) déterminé en milieu acide, le rapport IP/COD est souvent de l'ordre de 1 à 2 mg O_2/mg C pour les eaux brutes, alors qu'il est inférieur à 1 pour les eaux traitées.

À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine ne font pas état d'un niveau guide et d'une concentration maximale admissible pour le carbone organique total ; elles précisent cependant que toute cause d'augmentation des concentrations habituelles doit être recherchée.

La réglementation française actuelle demande la mesure du carbone organique total (ou à défaut de l'indice permanganate) et propose une référence de qualité de 2 mg/L, aucun changement anormal ne devant être enregistré.

La mesure du carbone organique permet, au cours des traitements des effluents, une surveillance du procédé et facilite l'estimation de la demande

en oxygène liée aux rejets. Pour un effluent bien déterminé, une corrélation avec la DBO et la DCO peut être établie.

L'action du rayonnement cosmique sur l'azote atmosphérique conduit à la formation de carbone 14 qui s'oxyde en $^{14}CO_2$; 1 g de carbone contient environ 0,22 Bq (6 pCi) de ^{14} C ce qui fait que pour une eau contenant 1 mg/L de carbone, on aura environ 0,22 Bq/m^3 (0,006 pCi/L). L'eau de mer contiendrait environ 4 Bq/cm ^{3} (0,1 pCi/L) de carbone 14.

Voir aussi DBO_5 , DCO, Matières organiques, Oxydabilité au permanganate de potassium.

Carbone organique dissous biodégradable (CODB)

La présence dans les eaux de composés organiques biodégradables favorise la dégradation de la qualité de l'eau dans les réseaux de distribution ou dans les circuits d'eau. Connue sous le nom de Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB) (cf. § A-9.5), cette fraction de matière organique utilisable comme substrat nutritif par les microorganismes hétérotrophes, ne représente en général qu'une faible quantité de carbone (moins de 1 mg/L, et parfois moins de 0,2 mg/L).

Cette fraction organique potentiellement assimilable par les microorganismes présents provoque des proliférations bactériennes, responsables de la contamination des eaux circulantes par des bactéries pathogènes ou des parasites (*Pseudomonas aeruginosa* ou *Legionella pneumophila* dans les eaux chaudes sanitaires et les circuits de refroidissement, coliformes, streptocoques ou encore cryptosporidies ou Giardia dans les réseaux d'eaux potables). Associés sous forme d'un biofilm sur la paroi des canalisations, ces microorganismes s'avèrent difficiles à éliminer. La stratégie développée pour maîtriser les recroissances bactériennes dans ces réseaux consiste donc à limiter le potentiel nutritif des eaux et donc le CODB.

Il a été montré que de très faibles teneurs en CODB (0,1 à 0,5 mg/L, et parfois même de l'ordre de 0,05 mg/L) étaient suffisantes pour soutenir un développement bactérien dans les biofilms des réseaux.

Cérium

Voir Lanthanides.

Césium

Césium stable (cf. § A-7.16)

Le césium, découvert en 1860 par Bunsen et Kirchhoff est un métal alcalin blanc et argenté. L'élément naturel stable est le césium 133.

Le césium a un comportement voisin de celui du potassium. Il a une grande affinité pour l'oxygène et s'enflamme spontanément dans l'air. Il réagit avec l'eau avec formation d'hydroxydes et dégagement d'hydrogène.

Le césium se retrouve à l'état de traces dans la plupart des eaux naturelles, à des teneurs généralement inférieures à 1 µg/L. Les eaux thermales peuvent en contenir des quantités plus élevées, pouvant atteindre 5 mg/L.

Césium radioactif (cf. § A-8.8)

Parmi les 31 isotopes du césium, outre le césium 133 seul isotope stable, les principaux isotopes radioactifs observés dans l'environnement sont le césium 135 de période 2,3 millions d'années (déchet radioactif à vie longue), le césium 137 de période 30,2 ans et le césium 134 de période 2 ans. Leurs origines artificielles possibles sont les essais nucléaires atmosphériques, le cycle du combustible des réacteurs nucléaires, les rejets accidentels, la fabrication de sources scellées de césium 137 pour les applications médicales et la radiothérapie. Le césium 137 et le césium 134 sont avec les isotopes de l'iode les principaux radionucléides relâchés en cas de rejets accidentels. Après l'accident du réacteur nucléaire de Chernobyl en avril 1986, des activités en 134Cs n'étaient détectables que dans la partie sud de la Mer du Nord. Le rapport caractéristique des activités 134Cs/137Cs était de 0,52 le 1er mai 1986 (H. Nies. J. Environ. Radioactivity, 1990, 11, 55-70).

Le césium, élément alcalin très réactif, présente un seul degré d'oxydation (+1). Sa rétention dans les argiles s'effectue par échange ionique avec les cations sorbés (NH4+ et K+). Du fait de cette rétention, la vitesse de migration en profondeur du césium 137 est très faible ; au bout de plusieurs dizaines d'années, il peut rester dans les dix premiers centimètres. Il peut s'accumuler dans les plantes.

Les isotopes radioactifs du césium sont émetteurs bêta/gamma. Le césium 137, émetteur bêta, conduit au baryum 137m avec un rendement de 94,6% et au baryum 137 stable avec un rendement de 5,4%. Le baryum 137m de période 2,55 minutes donne le baryum 137 stable avec émission d'un gamma de 662 keV.

Les effets étudiés surtout pour le césium 137 sont l'aplasie médullaire. Ils sont dus aux émissions gamma qui se propagent sur plusieurs centimètres dans l'eau et les tissus biologiques mous. La distance de demi-atténuation y est de 8 cm pour l'émission gamma de 662 keV.

Les voies d'exposition sont l'ingestion, l'inhalation et la contamination cutanée. Après ingestion, il franchit facilement la barrière intestinale.

La limite annuelle d'incorporation (LAI) ou quantité de radionucléide incorporé conduisant à la limite de dose efficace de 1 millisievert pour les personnes du public (CIPR N° 67, 1993 ; directive EURATOM, 1996) est pour le cérium 137 de 76900 Bq. La dose efficace est de 1,3 10-8 Sv/Bq pour l'adulte.

Bibliographie

IPSN (01/08/2001). Fiche radionucléide. Césium 137 + Baryum 137m.

CEA (27/07/2005). Direction des Sciences du Vivant.

IRSN (Révision 30/07/2005). Fiche radionucléide. Césium 137 et environnement.

Chloracétone

La 1,1-dichloracétone se produit lors de l'action du chlore sur les composés organiques (notamment les matières organiques naturelles) présents dans l'eau. Les données toxicologiques limitées n'ont par permis à l'OMS de fixer une valeur guide.

Chloral (hydrate)

Le trichloracétaldéhyde se forme par action du chlore sur les matières organiques naturelles (et les peptides). Ce produit a été longuement utilisé comme médicament, cependant les données toxicologiques sont limitées. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide provisoire de 10 μg/L.

Chlorate

Les sels les plus employés sont les chlorates de potassium et de sodium. Ce dernier en particulier est très utilisé dans l'industrie pour la fabrication de mélanges détonants et de teintures synthétiques. Par ailleurs, il est très employé comme herbicide non sélectif ; n'étant pas retenu à la surface des sols, il peut se retrouver dans les eaux de surface et d'irrigation et dans la nappe phréatique. La décomposition du bioxyde de chlore utilisé comme désinfectant peut être à l'origine de chlorate dans l'eau. Les réactions d'oxydation du dioxyde de chlore et des ions chlorites peuvent également conduire à la formation de chlorates (notamment l'oxydation par l'ozone). Chez l'adulte, la dose létale a été estimée à environ 15 g de chlorates, quelques grammes sont mortels chez l'enfant ; les intoxications sont généralement accidentelles. Ces produits qui sont de puissants oxydants sont très caustiques par voie digestive avec vomissements et douleurs épigastriques. L'action des chlorates rappelle celle des poisons méthémoglobinisants avec tubulopathies aiguës anuriques. Les troubles respiratoires associés sont fonction de l'atteinte hématologique. Bien qu'il n'existe pas de normes pour ces produits, il semble que des teneurs occasionnelles de quelques dizaines de milligrammes par litre ne présentent pas d'inconvénients majeurs (cf. § A-7.17).

Chlore résiduel

Du fait de son pouvoir oxydant rémanent, le chlore (chlore gazeux, acide hypochloreux ou ion hypochlorite) (cf. § A-13.2) est le réactif le plus utilisé pour la désinfection de l'eau. Sa dissolution dans l'eau conduit à la formation d'acide hypochloreux (HClO) et d'ions hypochlorite (ClO^-), la réaction d'équilibre dépendant du *p*H et de la température.

La partition entre les différentes formes du chlore, chlore gazeux ou chlore libre (acide hypochloreux et ion hypochlorite) est décrite au paragraphe A-13.2.1 (chimie du chlore et des chloramines).

À un *p*H de 7,5 (qui correspond au pKa de l'acide hypochloreux) le chlore libre est présent en quantité équivalentes sous les formes acide hypochloreux et ion hypochlorite. Or, la forme moléculaire (acide hypochloreux) est un bactéricide beaucoup plus puissant que la forme ionique (l'ion hypochlorite), ce qui implique de contrôler rigoureusement le *p*H des eaux à désinfecter.

En présence d'azote ammoniacal le chlore est rapidement consommé pour conduire à la formation de chloramines minérales (mono-, di- et trichloramine), puis à leur destruction pour une dose de chlore plus élevée (voir § A-13.2.1. Réactions chlore/ammoniaque). La présence d'azote ammoniacal augmente donc la demande en chlore des eaux et réduit la dose de chlore efficace pour la désinfection.

En réagissant sur la matière organique des eaux, le chlore appliqué pour la désinfection provoque la formation de dérivés organohalogénés indésirables (voir § A-13.2.1. Formation de composés organohalogénés) dont l'analyse se réfère aux composés adsorbables sur charbon actif, d'où leur nom de composés organohalogénés adsorbables (AOX), encore connus sous le nom de composés organohalogénés totaux (TOX).

Le traitement de l'eau d'alimentation par le chlore soulève assez souvent chez le consommateur un problème organoleptique (goûts de chlore). L'eau issue du traitement peut avoir des qualités organoleptiques inférieures à celles de la ressource. C'est par la diminution de l'ammoniaque et des matières organiques que l'on peut agir pour limiter les quantités de chlore utilisées, et ainsi retrouver des saveurs acceptables. Cependant, l'efficacité de la désinfection ne doit jamais être compromise. Si le réflexe de l'Américain du Nord est de considérer la saveur chlorée comme un critère de potabilité, l'Européen a plutôt tendance à rejeter une eau ayant un goût chloré prononcé. Le seuil de détection par la saveur étant de 0,2 mg/L, certaines populations non averties peuvent être amenées à attribuer des troubles divers à la présence du chlore. Bien que cet élément soit susceptible de paralyser des systèmes enzymatiques importants, en particulier la triosephosphodéshydrogénase nécessaire à l'oxydation du glucose, il n'a pas été signalé d'accident par la consommation d'eau chlorée et l'épidémiologie n'a pas mis en évidence que la chloration des eaux pouvait être dangereuse pour la santé. D'ailleurs le chlore résiduel disparaît très rapidement dans le tube digestif sous l'action de la salive et du liquide gastrique. Des observations font état d'anémies hémolytiques chez des sujets ayant été dialysés avec de l'eau contenant de 0,5 à 3,5 mg/L de chlore total. Une teneur de 1 mg/L après un contact de 30 minutes n'élimine cependant pas le problème causé par la présence éventuelle de virus.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande pour le chlore une valeur guide de 5 mg/L en précisant que pour une désinfection effective, la teneur en chlore résiduel libre doit être inférieure ou égale à 0,5 mg/L après au moins 30 min de contact à *p*H inférieur à 8. Toutefois, elle signale que des problèmes de goût et d'odeur peuvent se poser pour les consommateurs à des concentrations de 0,6 à 1 mg/L. L'OMS indique aussi une valeur guide de 3 mg/L pour la monochloramine et ne donne pas d'indications pour les di- et trichloramines.

La réglementation française actuelle ne fixe aucune référence de qualité pour le chlore libre et total, mais préconise qu'il n'existe aucune odeur ou saveur désagréable et qu'aucun changement anormal n'ait été enregistré.

En ce qui concerne le traitement des eaux de piscine par les composés du chlore, la réglementation française (arrêté du 28 septembre 1989) indique que l'eau des bassins doit avoir une teneur en chlore actif libre comprise entre 0,4 et 1,4 mg/L.

La chloration diminue la dureté carbonatée et augmente la dureté non carbonatée, en libérant de l'anhydride carbonique ; ceci présente un inconvénient dans les piscines où l'eau est recyclée. Le 2,4,6-trihydroxy-*s*-triazine (communément appelé acide isocyanurique) en stabilisant le chlore libre et en ralentissant sa décomposition par les rayons solaires permet le maintien de l'activité bactéricide et évide d'accroître les doses de ce désinfectant dans les piscines. Les quantités nécessaires de cet adjuvant varient de 30 à 100 mg/L. Selon la réglementation, la teneur en acide isocyanurique doit être égale ou inférieure à 75 mg/L.

La décontamination microbienne des eaux usées, préalablement traitées biologiquement, pratiquée avec des doses de chlore de l'ordre de 4 à 6 mg/L et un temps de contact de 30 min conduit habituellement à un abattement de 4 unités logarithmiques du nombre de coliformes totaux et fécaux. Avec le dioxyde de chlore, le même résultat serait obtenu avec des doses de 3 à 4 mg/L et un temps de contact de l'ordre de 10 min. Dans le cas d'une décontamination d'eaux usées par le chlore ou les composés chlorés, le rejet d'effluents peut entraîner une certaine toxicité pour la flore et la faune du milieu récepteur.

La limitation de l'échauffement des milieux récepteurs conduit à l'emploi de réfrigérants atmosphériques dans les centrales thermiques et nucléaires. La prolifération de la biomasse (bactéries, champignons, algues) à l'intérieur des circuits de réfrigération limite les échanges thermiques. L'injection de chlore permet de lutter contre ces proliférations biologiques mais son emploi n'est pas sans danger pour le milieu aquatique récepteur. L'action toxique est fonction de la forme chimique du chlore résiduel (HOCl, OCl^-, Cl_2 combiné), de la concentration et du temps d'exposition, l'acide hypochloreux étant responsable de la majorité de la toxicité du chlore libre. Les salmonidés semblent constituer les espèces les plus fragiles, leur résistance est généralement voisine ou inférieure à celles des invertébrés.

Les variations significatives des études de toxicité paraissent devoir être liées à l'emploi de méthodes différentes en particulier du point de vue analytique. Certains auteurs considèrent que les toxicités du chlore libre et combiné sont comparables et qu'en chloration continue, une teneur en chlore résiduel total dans le milieu récepteur inférieure à 0,002 mg/L ne devrait pas affecter les organismes aquatiques. Pour une chloration discontinue (2 h/j), la concentration en chlore résiduel total inférieure à 0,04 mg/L n'affecterait pas l'ensemble des espèces de poissons. D'autres auteurs différencient l'action toxique de l'acide hypochloreux et du chlore combiné ; ils donnent comme valeurs seuils de non-toxicité dans le milieu récepteur pour une chloration en continu : 0,0033 mg/L (Cl_2) pour l'acide hypochloreux, 0,033 mg/L (Cl_2) pour le chlore combiné.

Chlorite

Le chlorite de sodium (cf. A-7.18) est utilisé pour la désinfection en combinaison avec le chlore ou l'acide chlorhydrique pour la formation de dioxyde de chlore. Il s'emploie soit en poudre soit en solution. Lorsqu'il est en poudre, ce produit présente un risque majeur d'inflammation ou d'explosion avec les matières organiques. L'emploi du dioxyde de chlore comme préoxydant a fait l'objet de discussions en raison de la toxicité éventuelle des résidus de chlorate et de chlorite. Le chlorite est le réducteur conjugué majoritaire du dioxyde chlore (0,6 à 0,7 mg de ClO_2^- sont formés pour 1 mg de ClO_2 consommé).
Des études expérimentales sur le chat et le singe ont montré une atteinte des cellules sanguines avec formation de méthémoglobine.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide provisoire de 200 µg/L.

La réglementation française a intégré ce paramètre comme référence de qualité avec une valeur de 200 µg/L.

Chlorobenzènes

Les dérivés chlorés du benzène sont largement utilisés dans l'industrie. Les mono- et orthodichorobenzènes sont employés comme diluants dans l'industrie des peintures et des vernis, comme dégraissants dans l'industrie textile, dans la métallurgie, pour la fabrication de produits diélectriques, de colorants, d'encre et dans l'industrie pharmaceutique. Ils sont aussi utilisés, ainsi que les trichloro-, tétrachloro- et hexachlorobenzènes dans les synthèses organiques et comme fongicides et insecticides.

D'une façon générale, ces produits liquides ou solides sont insolubles dans l'eau, mais ils peuvent s'y retrouver à l'état de traces. Les trichlorobenzène, 1,4-dichlorobenzène et hexachlorobenzène qui se présentent sous forme solide ne se retrouvent généralement pas dans l'eau à des concentrations dépassant 0,1 µg/L. Par contre, le monochlorobenzène et les 1,2-dichlorobenzènes qui sont liquides peuvent se rencontrer à des teneurs allant de 0,1 à 10 µg/L. Les seuils d'odeur pour le chlorobenzène, les 1,2- et 1,4-dichlorobenzènes sont respectivement et approximativement de 30, 3 et 1 µg/L.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 300 µg/L pour le monochlorobenzène, de 1 000 µg/L pour le 1,2-dichlorobenzène, de 300 µg/L pour le 1,4-dichlorobenzène et de 20 µg/L pour les trichlorobenzènes. Elle précise que les seuils d'odeur et de goût se situent entre 10 et 120 µg/L pour le monochlorobenzène, entre 2 et 10 µg/L pour le 1,2-dichlorobenzène, entre 0,3 et 30 µg/L pour le 1,4-dichlorobenzène et entre 5 et 50 µg/L pour les trichlorobenzènes. Il convient de respecter ces valeurs pour éviter les plaintes des consommateurs.

En ce qui concerne l'hexachlorobenzène, l'OMS recommande une valeur guide de 1 µg/L tenant compte d'un accroissement d'un risque additionnel de cancer pour 10^5 individus.

Monochlorobenzène

La voie majeure d'absorption est la voie pulmonaire. Cependant, le monochlorobenzène peut aussi être absorbé d'une façon plus limitée par voie digestive ; la présence de matières grasses facilite la résorption digestive. Dans l'organisme, il se transforme en 4-chlorocatéchol et en dérivés sulfo- et glucuroconjugués. Expérimentalement, le monochlorobenzène peut être considéré comme mutagène, par contre la littérature ne fait pas état d'études de cancérogenèse.

1,2- et 1,4-dichlorobenzènes

L'action toxique de ces produits est voisine et peut se traduire par une atteinte neurologique centrale et des lésions hépatiques et rénales. Compte tenu de l'odeur caractéristique de ces produits, les cas d'intoxications accidentelles par voie digestive sont très limités et la symptomatologie est mal définie. Expérimentalement, les essais n'ont pas révélé d'action mutagène ; les études disponibles ne permettent pas de conclure à un risque cancérogène.

Trichlorobenzènes

Le produit commercial est constitué par un mélange de trois isomères (1,2,4-, 1,2,3- et 1,2,2-4). La toxicité de ces produits serait plus faible que pour les autres chlorobenzènes. Dans l'organisme, il y a une concentration sélective dans les graisses. L'élimination se fait principalement par voie urinaire et accessoirement par voie fécale. Chez l'animal, l'intoxication se traduit par une atteinte hépatique et neurologique centrale.

Hexachlorobenzène

L'hexachlorobenzène est utilisé principalement comme fongicide. Sa toxicité est faible pour la plupart des espèces animales ($>$ 1 g/kg). La majorité de l'hexachlorobenzène est stockée dans l'organisme sans modification, une petite partie l'est sous forme de pentachlorophénol. L'élimination se fait principalement par voie fécale et accessoirement par voie urinaire. Son action toxique aiguë se manifeste sur le système nerveux central ; dans le cas d'intoxication chronique, il induit une porphyrie. Plusieurs milliers d'intoxications d'origine alimentaire ont été constatées en Turquie (1955) chez des jeunes enfants qui avaient consommé du pain fabriqué à partir de graines traitées par de l'hexachlorobenzène. L'intoxication a été caractérisée par des troubles cutanés, une porphyrie, une asthénie, une hépatomégalie, etc. L'expérimentation animale a montré que ce produit était cancérogène, toutefois les études effectuées sur les intoxications en Turquie n'ont pas apporté la preuve d'une action carcinogène sur l'homme. Expérimentalement, il ne semble pas que cette substance soit mutagène.

Voir aussi Hydrocarbures benzéniques.

Chlorophénols

Les dérivés mono-, di-, tri- et tétrachlorophénols (cf. § A-10.25) sont relativement peu employés (fongicides, bactéricides et dans les synthèses chimiques). Dans l'eau, ils sont susceptibles de se former, plus particulièrement le 2,4,6-trichlorophénol, à partir des phénols lors des traitements de décontamination microbienne par le chlore ou ses dérivés. Leur inconvénient majeur est de développer des odeurs et des goûts très désagréables, à des niveaux très bas de l'ordre de 0,1 à 1 μg/L. Leur mise en évidence dans l'eau potable est délicate car la méthode spectrophotométrique utilisée pour les phénols n'est pas suffisamment sensible. Ils sont seulement détectables par des techniques chromatographiques ou par le goût et l'odeur selon les méthodes habituelles. La réglementation française prévoit que les phénols ne doivent pas être détectables organoleptiquement après ajout de 2 mg/L de chlore. Généralement, les dérivés faiblement substitués peuvent être détruits par des procédés d'oxydation, les composés hautement substitués sont éliminés par l'absorption sur le charbon actif.

2-chlorophénol, 2,4-dichlorophénol

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (goût, odeur), l'OMS recommande une valeur limite de 0,1 à 10 μg/L pour le 2-chlorophénol et de 0,3 à 40 μg/L pour le 2,4-dichlorophénol. En ce qui concerne les problèmes de santé, aucune valeur guide n'a été fixée par l'OMS.

2,4,6-trichlorophénol

Expérimentalement, ce dérivé a une action carcinogène et de ce fait est considéré comme susceptible de participer à une élévation du taux des cancers chez l'homme s'il est absorbé en quantité suffisante. Son action mutagène a été mise en évidence sur des levures. Si son métabolisme est peu connu, on sait cependant qu'il s'élimine rapidement par les urines.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 200 μg/L tenant compte tout à la fois d'un accroissement d'un risque de cancer pour 10^5 individus et d'un développement de goûts et d'odeurs particuliers.

Pentachlorophénol

Le pentachlorophénol est assez largement employé dans l'industrie mais il est surtout utilisé pour la conservation des bois. Dans les zones d'emploi, des quantités peuvent se retrouver dans les eaux souterraines et de surface. Dans le PCP technique, on trouve des microcontaminants (dibenzo-*p*-dioxines et des dibenzofuranes polychlorés), le plus toxique étant l'hexachlorodibenzo-*p*-dioxine. Ces impuretés seraient la cause des phénomènes non aigus de toxicité du PCP commercial. L'intoxication se traduit par des troubles de l'état général (fatigue, anorexie) ; l'intoxication aiguë développe une vaso-dilatation généralisée. Il n'y a pas d'accumulation dans l'orga-

nisme et la majeure partie du produit (environ 70 %) est éliminée par les urines. L'expérimentation animale a montré que le pentachlorophénol avait une action toxique sur l'embryon et le fœtus mais elle n'a pas révélé d'action tératogène. Étant donné la présence dans le PCP technique d'au moins une impureté cancérogène (hexachlorodibenzo-*p*-dioxine, il convient de considérer le risque de cancérogénicité. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide provisoire de 9 μg/L.

Voir aussi Phénols.

Chloropicrine (trichloronitrométhane)

Le trichloronitrométhane se forme par l'action du chlore sur les acides aminés, les acides humiques et les nitrophénols ; la présence de nitrates favorise sa formation. Les teneurs retrouvées ne dépassent généralement pas actuellement 5 μg/L. Les données toxicologiques sont insuffisantes pour définir une valeur guide.

Chlorures

Les teneurs en chlorures des eaux (cf. § A-7.19) sont extrêmement variées et liées principalement à la nature des terrains traversés. Ainsi, les eaux courantes exemptes de pollution ont une teneur généralement inférieure à 25 mg/L, mais dans certaines régions, la traversée de marnes salifères peut conduire à des teneurs exceptionnelles de 1 000 mg/L (Arc-et-Senans, Doubs). En France, 90 % des eaux superficielles ont une teneur en chlorures inférieure à 100 mg/L.

En ce qui concerne les eaux destinées à la consommation humaine, en France, on considère que 99,5 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuaient une eau dont la teneur moyenne en chlorures était inférieure à 200 mg/L (Cl^-).

Les teneurs en chlorures des eaux naturelles sont suceptibles de subir des variations provoquées :

– dans les zones arides par un lessivage superficiel en cas de fortes pluies ;

– dans les zones urbaines et industrielles par des pollutions liées à des eaux usées (mines de potasse : 1 kg de potasse donne 3 kg de sels résiduaires, réalisation de stockages pétroliers, industries chimiques) ;

– en zone côtière par des infiltrations d'eau de mer dans les nappes, en particulier lors des pompages excessifs.

Une pollution hivernale des eaux de surface peut être liée au traitement des routes, l'épandage de chlorure de sodium pouvant atteindre 30 g/m^2 en traitement curatif, ce qui correspond à 210 kg/km pour une route à deux voies. Le salage des aliments constitue la principale source d'apport des chlorures chez l'homme.

Le gros inconvénient des chlorures est la saveur désagréable qu'ils communiquent à l'eau à partir de 250 mg/L, surtout lorsqu'il s'agit de chlorure

de sodium. Pour une quantité équivalente de chlorures, la saveur peut être moins marquée en présence de calcium et de magnésium. Ils sont aussi susceptibles d'amener une corrosion dans les canalisations et les réservoirs, en particulier pour les éléments en acier inoxydable, pour lesquels les risques s'accroissent à partir de 50 mg/L.

Dans le contrôle des eaux, ce qu'il importe de constater, c'est moins le taux absolu de chlorures qu'elles contiennent que la constance de ce taux. Les chlorures très facilement solubles ne participent pour ainsi dire pas aux processus biologiques ; ils ne jouent aucun rôle dans les phénomènes de décomposition et ne donc pas modifiés. Il ne faudrait cependant pas penser qu'il y a obligatoirement une pollution d'origine humaine ou animale lorsqu'une augmentation du taux de chlorures est constatée (élimination journalière humaine : 10 à 15 g en chlorure de sodium). Pour peu que le débit soit important, il faudrait admettre une pollution massive assez invraisemblable pour une augmentation relativement faible du taux de chlorures. Une diminution peut, par ailleurs, être le fait d'infiltrations superficielles tout aussi dangereuses. Dans le cas d'un recyclage des eaux usées, le chlorure de sodium échappant aux traitements, il se produira inexorablement un enrichissement de l'eau, pouvant conduire à une limitation pour la réutilisation.

L'OMS recommande pour la teneur en chlorures dans l'eau destinée à la consommation humaine une valeur guide de 250 mg/L pour des considérations gustatives et des risques de corrosion. La réglementation française a intégré ce paramètre dans les références de qualité avec comme valeur 250 mg/L.

Ces teneurs peuvent être assez largement dépassées et atteindre 900 mg/L, en particulier dans les zones arides, sans autre inconvénient qu'un goût désagréable, sauf pour certains malades.

De nombreux procédés industriels de traitement des eaux ont été mis au point (distillation, osmose inverse, électrodialyse). Ces procédés sont plus particulièrement utilisés dans les zones arides disposant d'énergie à bas prix de revient.

Pour l'usage agricole, les teneurs en chlorures peuvent limiter certaines cultures. Le chlore n'est présent dans le sol que dans la solution du sol, sous forme de Cl^-. Il n'est pas fixé et ne participe en aucun cas à des précipitations : en effet, le produit de solubilité du chlorure de sodium est tel que la pression osmotique tolérable par le végétal est atteinte bien avant l'apparition du premier cristal de sel. Dès que la teneur en chlore de la solution du sol dépasse une certaine valeur, le chlore est absorbé par les racines et s'accumule dans les feuilles. Il provoque des brûlures débutant à la pointe des feuilles âgées et progressant vers l'arrière en suivant les bords du limbe.

Voir aussi Sodium.

Chlorure de cyanogène

Voir Cyanures, Thiocyanates.

Chlorure de vinyle

Le chlorure de vinyle monomère (cf. § A-10.10) est obtenu industriellement par chloration de l'éthylène. Le passage au polymère (chlorure de polyvinyle) par homopolymérisation se fait en autoclave. Le risque est fonction de la présence de monomère résiduel dans le polymère. Ce problème peut être résolu par un contrôle de la fabrication des tuyauteries. Le chlorure de vinyle monomère est légèrement soluble dans l'eau ($<$ 0,11 %) à 25 °C. De ce fait, il a pu être retrouvé à des doses de quelques microgrammes dans certaines eaux de distribution.

La toxicité du chlorure de vinyle serait liée à sa transformation en métabolites réactifs électrophiles : l'oxyde de chloroéthylène et accessoirement le chloroacétaldéhyde.

L'intoxication se caractérise par le dysfonctionnement du système nerveux central, l'acro-ostéolyse des extrémités et l'angiosarcome hépatique. Dans le monde, plusieurs dizaines d'angiosarcomes ont été diagnostiqués chez des travailleurs de l'industrie chimique. Toutefois, les teneurs atmosphériques étaient élevées car les quantités de chlorure de vinyle liquéfié étaient importantes et manipulées sous pression. Il a été aussi signalé des lésions du foie, du poumon, de la peau. Des expérimentations sur l'animal ont montré les propriétés carcinogènes aussi bien par inhalation que par ingestion. *In vitro,* le chlorure de vinyle peut avoir une action mutagène, par contre, il ne semble pas être tératogène.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur limite de 5 µg/L tenant compte d'un accroissement d'un risque de cancer pour 10^5 individus. Les réglementations européenne et française ont intégré ce paramètre comme limite de qualité à une valeur de 0,5 µg/L (pour le monomère).

Voir aussi Hydrocarbures chlorés aliphatiques.

Chrome

Le chrome pur est assez peu employé dans l'industrie, mise à part la fabrication des aciers spéciaux ; par contre, ses dérivés sont très utilisés. Dans les industries chimiques, ce sont surtout les dichromates qui sont les plus employés. Le chromage électrolytique est très répandu et le tannage au chrome est très utilisé pour les cuirs et les peaux. Les sels de chrome s'emploient comme mordants pour les teintures et comme colorants (vert de chrome, rouge de chrome, jaune de chrome, etc.).

Enfin, certains composés du chrome sont quelquefois ajoutés à l'eau industrielle de refroidissement comme éléments anticorrosion.

Le chrome est présent en petites quantités dans la nature (cf. § A-7.21). Il est plus important dans les roches de type basique que dans celles de type siliceux. D'une façon générale, sa solubilité est faible vis-à-vis des phénomènes de lessivage des sols. De ce fait, les eaux brutes n'en contiennent que de faibles quantités (de 5 à 15 µg/L).

Le chrome est amphotère et peut exister dans l'eau sous plusieurs formes ; les eaux naturelles n'en contiendront à l'état de cation que lorsque le *p*H est

bas. Pratiquement, le chrome est un élément anormal de l'eau ; sa présence est le plus souvent liée aux rejets des ateliers de galvanoplastie. L'oxydation des composés chromeux étant instantanée, le chrome peut se trouver à l'état trivalent (chromites) ou hexavalent (chromates et dichromates).

Contrairement aux eaux résiduaires, et du fait de l'oxydation, l'eau de distribution, bien aérée et souvent chlorée ne contient généralement que du chrome hexavalent, considéré comme plus toxique que le chrome trivalent. Chez l'homme, quelques µg de chrome sont considérés comme utiles pour l'équilibre du métabolisme du glucose et certains auteurs indiquent que ce métal aurait un effet protecteur contre l'artériosclérose. Les quantités de chrome absorbées journellement varient très largement avec l'alimentation (de 10 à 300 µg/j). La quantité fixée par l'organisme est faible, le chrome s'éliminant par les fèces et surtout par les urines (80 %). Chez l'homme, les examens toxicologiques montrent que l'accumulation du chrome se fait principalement dans les poumons ; l'air et plus particulièrement le tabagisme pourraient donc jouer un rôle prépondérant comme vecteur de contamination.

L'intoxication aiguë par le chrome se traduit par une tubulonéphrite parfois compliquée d'une hépatite toxique avec ictère. L'intoxication chronique à caractère professionnel développe des lésions cutanées et des muqueuses avec des atteintes de l'appareil respiratoire (bronchites, asthme, cancers broncho-pulmonaires). Toutefois, il ne semble pas que l'absorption de chrome alimentaire constitue un risque carcinogène. L'OMS ainsi que les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine ont adopté comme valeur limite du chrome le chiffre de 0,05 mg/L. En raison du caractère cancérogène par inhalation, le Centre international de recherche sur le cancer a classé le chrome VI dans le groupe 1 (cancérogène pour l'homme) et le chrome III dans le groupe 3. En fait, la limite indiquée pour le chrome est très inférieure à la dose toxique, mais il est estimé que cet élément devrait être absent de l'eau de boisson.

Du point de vue de la vie aquatique, les organismes inférieurs (limite : 0,05 mg/L en chrome total) sont plus sensibles que les poissons (limite : 1 mg/L en chrome total).

L'élimination du chrome à partir des eaux résiduaires ne présente pas de difficultés particulières, en utilisant des traitements de précipitation chimique.

Cobalt

Le cobalt est présent en petites quantités dans la nature ; il est plus important dans les roches de type basique que dans celles de type siliceux. Les teneurs dans les eaux naturelles sont nulles ou très faibles, généralement inférieures à 10 µg/L (cf. § A-7.22). De petites quantités de métal peuvent être mises en solution par le développement d'une activité bactérienne spécifique. La terre arable en contient en moyenne 5 mg/kg. Le cobalt est très utilisé dans la métallurgie des aciers spéciaux très résistants ; les sels

de cobalt sont également employés comme pigments colorés (peintures, céramiques) et comme catalyseurs.

Le cobalt peut se trouver à l'état divalent ou trivalent ; les solutions de sels de cobalt divalent sont relativement stables alors que celles de cobalt trivalent ne le sont pas.

Ce métal intervient en tant qu'oligo-élément dans un certain nombre de catalyses enzymatiques et constitue un élément de la vitamine B12. Son action sur le sang (polyglobulie) est bien connue. Il agit aussi sur le système nerveux neuro-végétatif, ainsi que sur le système cardio-vasculaire.

Des études statistiques aux États-Unis ont montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre la présence de cobalt dans l'eau et la mortalité par cancer chez l'homme.

À doses moyennes, l'action toxique aiguë est limitée ; à doses plus élevées, les symptômes sont caractérisés par des vomissements, des diarrhées avec albuminerie et quelquefois anurie.

Il faut des doses journalières supérieures à plusieurs mg/kg pour développer chez l'animal une toxicité aiguë. Cependant, une intoxication chronique a été observée chez des enfants absorbant des préparations de cobalt comme antianémique à des doses journalières de 1 à 6 mg/kg.

Il a été mis en évidence une action sur le myocarde par absorption en quantités importantes de bière à laquelle avait été ajouté du cobalt pour aider à la formation de mousse (1,2 à 1,5 mg/L de cobalt). Toutefois, les quantités susceptibles d'être absorbées (10 à 15 mg de sulfate de cobalt par jour) étaient bien inférieures aux doses thérapeutiques utilisées (300 mg/j) sans effet toxique sur le myocarde. Les recherches ont montré que la toxicité résultait de l'association du cobalt à l'alcool dont les actions toxiques respectives étaient ainsi potentialisées.

En fait, la quantité de cobalt susceptible d'être absorbée journellement par l'homme à partir de l'eau (5 à 8 μg/j) est bien inférieure à celle apportée par l'alimentation (0,3 mg/j). Les directives du Conseil des communautés européennes, l'OMS et la réglementation française ne donnent pas de valeurs pour le cobalt. Une teneur de 1 mg/L dans l'eau de boisson pourrait être considérée comme concentration limite ; cette valeur était d'ailleurs celle adoptée par l'ex-URSS.

La présence de cobalt est un fait général tant chez les animaux que chez les végétaux. Certains légumes sont riches en cobalt (épinards : 0,4 à 0,6 mg/kg sec ; choux ou laitue : 0,2 à 0,3 mg/kg sec). Son absence dans l'alimentation du bétail de certaines contrées (Nouvelle-Zélande, Australie) provoque une maladie appelée *coast-disease*.

Conductivité

La mesure de la conductivité (cf. § A-5.2) permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution. D'une façon générale, la conductivité s'élève progressivement de l'amont vers l'aval des cours d'eau, les écarts sont d'autant plus impor-

tants que la minéralisation initiale est faible, en particulier dans les zones à substrat acide ou à sous-sol siliceux. Dans le cas d'un contrôle de distribution d'eau potable, l'intérêt de cette méthode ne réside pas dans une seule mesure mais dans une série de déterminations ou d'enregistrements en continu qui permettront de déceler les variations de composition pouvant signaler des arrivées d'eau susceptibles d'être polluées. Dans les eaux de surface et les rejets d'eaux usées, des modifications importantes de la conductivité peuvent intervenir rapidement au cours de la journée. On peut admettre que la situation est particulière ou anormale au-delà de 2 000 μS/cm. En France, environ 90 % des eaux superficielles ont une conductivité inférieure à 1 000 μS/cm. En ce qui concerne les eaux destinées à la consommation humaine, en France, environ 2 % de la population reçoit une eau dont la conductivité électrique est supérieure à 1 000 μS/cm et près de 90 % de la population reçoit une eau dont la conductivité électrique est comprise entre 200 et 1 000 μS/cm.

Ces valeurs sont à rapprocher de la conductivité d'une eau déminéralisée très pure qui est de l'ordre de 0,04 μS/cm et de celle des eaux saumâtres et de l'eau de mer qui varie entre 10 000 et 30 000 μS/cm.

Le tableau ci-dessous donne quelques indications sur la relation existant entre la minéralisation et la conductivité.

conductivité < 100 μS/cm	minéralisation très faible;
100 μS/cm < conductivité < 200 μS/cm	minéralisation faible;
200 μS/cm < conductivité < 333 μS/cm	minéralisation moyenne;
333 μS/cm < conductivité < 666 μS/cm	minéralisation moyenne accentuée;
666 μS/cm < conductivité < 1 000 μS/cm	minéralisation importante;
conductivité > 1 000 μS/cm	minéralisation élevée.

Les directives du Conseil des communautés européennes relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine indiquent pour la conductivité un niveau guide de 2500 μS/cm à 20 °C. La réglementation française est plus contraignante puisque la référence de qualité est comprise entre 180 et 1000 μS/cm à 20 °C.

Une conductivité de l'eau supérieure à 1 500 μS/cm fait considérer une eau comme difficilement utilisable dans les zones irriguées. Pour les usages industriels, l'interprétation des résultats doit se faire en fonction d'une analyse complète de l'eau. Il faut retenir, pour le contrôle des rejets industriels, que la conductivité ne reflète qu'une minéralisation globale et ne permet pas d'identifier les éléments chimiques en cause.

Voir aussi Résistivité électrique.

Couleur

La coloration d'une eau est dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances en solution (cf. § A-2.1). Elle est dite apparente quand les substances en suspension y ajoutent leur propre coloration. Les couleurs réelle et apparente sont approximativement identiques dans l'eau claire et les eaux de faible turbidité.

L'eau potable examinée sous une épaisseur moyenne de 20 cm est incolore ; sous une épaisseur de quelques mètres, l'eau pure a une coloration bleue. En fonction de la turbidité, de la présence de plancton, des matières en solution (acides humiques, fer, manganèse, rejets industriels), elle pourra virer au vert, jaune ou brun. Ce phénomène peut aussi se rencontrer dans certaines sources peu minéralisées en provenance de terrains granitiques.

L'eau colorée présente des inconvénients : indépendamment des problèmes esthétiques, les substances naturelles qui donnent la coloration à l'eau peuvent, en formant des complexes avec des ions métalliques, interférer sur les phénomènes de floculation lors des traitements, contribuer au colmatage des membranes, consommer des quantités importantes de désinfectant, produire des sous-produits de désinfection et limiter la capacité des résines échangeuses d'ions. Bien qu'elle puisse par ailleurs satisfaire aux normes bactériologiques et chimiques, une eau présentant une certaine coloration, sans être dangereuse, est peu engageante et sera suspecte au consommateur. D'un point de vue pratique, une coloration de 5 unités (échelle colorimétrique au platino-cobalt) étant déjà décelée par beaucoup d'utilisateurs, cette valeur ne devrait pas être dépassée pour des raisons esthétiques.

Dans un certain nombre de pays, la valeur de 10 unités est considérée comme un chiffre qu'il est souhaitable de ne pas dépasser et la valeur de 20 unités est admise comme limite supérieure acceptable. L'OMS et la réglementation française (en tant que référence de qualité) indiquent 15 unités (15 mg/L Pt).

Cuivre

Le cuivre est présent dans la nature sous forme de minerais de cuivre natif, de minerais oxydés ou sulfurés ; à l'air, il se recouvre d'une mince couche de carbonate basique. En métallurgie il entre dans de nombreux alliages parmi lesquels le laiton (cuivre et zinc), le bronze (cuivre et étain), le maillechort (cuivre, nickel et zinc). En raison de ses propriétés de bon conducteur de la chaleur et de l'électricité, les usages du cuivre sont très répandus.

Les sels de cuivre (sulfate, acétate, dérivés organiques) sont utilisés comme fongicides ou algicides en agriculture, pour les traitements chimiques de surface, pour le tannage des peaux, la fabrication de céramiques et de peintures. L'intoxication par les sels métalliques, d'origine accidentelle le plus souvent, se traduit par un syndrome digestif et hémolytique accompagné d'une tubulonéphrite. Biologiquement, ce métal joue un rôle important dans différents métabolismes (coenzymes de métalloprotéines)

et dans la synthèse de l'hémoglobine. Les besoins quotidiens d'un adulte sont estimés à 2 mg. Le cuivre peut se rencontrer dans certaines eaux naturelles (cf. § A-7.23) généralement à des teneurs inférieures à 1 mg/L sous forme ionique ou de complexes (cyanures, ammoniaque, produits organiques, etc.). En dehors de pollutions industrielles ou de traitements agricoles, ce métal provient habituellement de la corrosion des tuyauteries de distribution (0,5 à 1 mg/L), plus rarement il constitue le résidu d'un traitement des algues par les sels de cuivre.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide provisoire de 2 mg/L compte tenu des incertitudes de la toxicité du cuivre pour l'homme. Toutefois, elle précise que des risques de taches sur les appareils sanitaires peuvent apparaître pour des teneurs supérieurs à 1 mg/L.

Les directives du Conseil des communautés européennes indiquent comme valeur impérative 2 mg/L. La réglementation française retient comme valeur limite 2 mg/L et comme référence de qualité 1 mg/L. Ces valeurs ont été retenues plutôt en raison de la saveur que de la toxicité qui, relativement faible pourrait permettre des doses plus élevées surtout si on les compare aux quantités journellement introduites par l'alimentation (de l'ordre de 2 à 5 mg/j). Pratiquement, la saveur métallique et astringente des sels de cuivre apparaît pour des doses de 4 à 5 mg/L.

Il convient donc d'éviter un séjour trop long de l'eau en présence de cuivre. Quant aux dangers relevés par certains à propos du traitement des algues, il y a lieu de se rappeler que le cuivre n'intervient approximativement que pour un quart dans la masse moléculaire du sulfate de cuivre.

Avec certaines eaux douces, des concentrations voisines de 0,5 mg/L peuvent colorer le linge, la procelaine des éviers et donner un noircissement à certaines denrées alimentaires après cuisson (asperges, champignons, etc.).

Sauf pour quelques espèces (salmonidés) il ne semble pas que des teneurs inférieures à 1 mg/L soient toxiques pour les poissons. Par contre, la vie aquatique peut être perturbée par des doses plus faibles, mais les conditions de toxicité varient suivant les espèces et la composition de l'eau (oxygène dissous, anhydride carbonique, température, calcium, magnésium, etc.).

Du point de vue industriel, l'acide cyanhydrique et l'ammonique sont très agressifs pour le cuivre, car ils donnent naissance à des complexes très stables. Le premier se rencontre surtout dans l'industrie pétrolière ; quant au second, il peut provenir de la décomposition thermique des amines utilisées pour la protection de certaines tuyauteries. Il a été recommandé de ne pas dépasser 0,1 mg/L pour éviter la corrosion de l'aluminium.

Il convient de signaler que l'utilisation d'éléments en acier galvanisé (ballons, tuyauteries, etc.) en aval de tuyauteries en cuivre engendre des phénomènes de corrosion. Le cuivre est susceptible de perturber l'épuration des eaux résiduaires par les boues activées, cela à des teneurs faibles (1 mg/L) et la digestion des boues avec des teneurs plus élevées (100 mg/L).

Cyanogène (chlorure)

Le chlorure de cyanogène se forme au cours de la chloration par action de l'acide hypochloreux sur les matières organiques (notamment naturelles) en présence de l'ion ammonium. Ce composé se transforme rapidement en cyanure dans l'organisme. La valeur guide est fondée sur les propriétés des cyanures. Pour l'ensemble des composés cyanogènes exprimés sous forme de cyanure l'OMS propose une valeur guide de 70 μg/L.

Cyanures

La toxicité des cyanures qui varie en fonction du cation est liée à la possibilité de libération de l'acide cyanhydrique. Ainsi, les cyanures alcalins, les moins stables, sont aussi les plus dangereux. Les cyanures complexes comme les ferrocyanures et les thiocyanates sont beaucoup moins toxiques. Les cyanates ont une toxicité faible, par contre les isocyanates employés pour la fabrication du polyuréthane ont une toxicité significative liée au groupement N = C = O qui est très réactif.

En présence d'un composé donneur de soufre (cystéine), le cyanure est détoxifié en thiocyanate au niveau des mitochondries hépatiques. Les cyanures ont une grande affinité pour les ions métalliques libres ou engagés dans des molécules organiques complexes ; étant donné leur grande affinité pour le cobalt, le tétracémate dicobaltique permet d'inhiber l'action toxique en formant des composés atoxiques.

L'intoxication aiguë avec des quantités importantes de cyanures (100 mg en CN^-) a un caractère foudroyant (vertiges, pertes de connaissance, convulsions, cyanose, arrêt respiratoire). L'intoxication chronique se caractérise par l'asthénie, une perte de poids, des troubles digestifs, nerveux et cardiaques. Le groupement C ≡ N, très électronégatif, réagit sur le fer ferrique de la cytochrome oxydase qui intervient dans les réactions enzymatiques de la respiration cellulaire.

Les cyanures retrouvés dans les eaux proviennent généralement des eaux résiduaires industrielles (cf. § A-3.5). Celles-ci peuvent avoir pour origine :

– les installations de cyanuration (extraction de l'or et de l'argent) de galvanoplastie ; le cyanure se trouve alors en grande concentration mais le volume journalier est faible ;

– les eaux de lavage des gaz des hauts fourneaux et de cokeries, les opérations de synthèse dans les industries chimiques et pétrochimiques (fabrication de plastiques, de pesticides, de teintures). La concentration en cyanures est très faible, mais le volume relativement important.

L'apport alimentaire en cyanures (glucosides cyanogénétiques) n'est pas connu mais il est certainement très faible ; les aliments les plus riches sont les amandes, les haricots de Lima, les pousses de bambou, le manioc. Les cyanures minéraux sont en grande partie détruits par la cuisson des aliments. Le tabac semble être la source d'intoxication chronique majeure, la fumée d'une cigarette sans filtre contenant entre 150 et 300 μg de HCN^-.

Pour certains auteurs, une dose de 10 mg/j est pratiquement sans effet sur l'homme, les cyanures étant rapidement transformés dans l'organisme en thiocyanates beaucoup moins toxiques. Il est généralement reconnu que l'absorption de 4,7 mg de cyanures par jour n'est pas dangereuse pour l'homme. Une valeur limite de 0,07 mg/L pour l'eau de boisson constitue donc un facteur de sécurité de 30 et par là même une norme satisfaisante du point de vue de la santé publique. L'OMS recommande une valeur limite de 0,07 mg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française précisent comme valeur limite 0,05 mg/L.

Les germes aérobies responsables de l'autoépuration et le poisson sont sensibles à une teneur de 0,1 mg/L d'acide cyanhydrique. Du point de vue physiologique, la toxicité, aiguë se manifeste par une inhibition enzymatique du transfert tissulaire de l'oxygène au niveau des branchies. La molécule responsable est l'acide cyanhydrique et non l'ion CN^-. Ce dernier n'est toxicologiquement important qu'en raison de l'acide cyanhydrique avec lequel il est en équilibre selon la réaction :

$$CN^- + H_2O \rightleftarrows HCN + OH^-$$

La quantité d'acide cyanhydrique présente dans un échantillon d'eau varie avec le *p*H, la température et la force ionique. La dissociation des molécules HCN étant très faible (1 %) pour les *p*H inférieurs à 7, la toxicité s'élève avec la diminution du *p*H. Pratiquement, comme le *p*H des eaux superficielles varie autour de 7 ± 1, la plus grande partie des cyanures se trouve à l'état d'HCN. Les concentrations toxiques pour le poisson en acide cyanhydrique ne sont généralement pas issues des ferro- et ferricyanures, sauf sous l'action directe de la lumière. Par contre, les cyanures complexes de zinc et de cadmium sont presque complètement dissociés en solution diluée ; les composés cyanés du nickel ont une stabilité intermédiaire.

La destruction des cyanures dans les effluents industriels s'effectue généralement par oxydation (hypochlorite de sodium, chlore gazeux, peroxyde, ozone, acide monopersulfurique ou acide de Caro) avec formation de cyanates (1 000 fois moins toxiques) pouvant eux-mêmes être finalement oxydés en azote et en anhydride carbonique. La décontamination microbienne des eaux conduite de façon à obtenir du chlore libre à un *p*H neutre ou légèrement alcalin réduit considérablement la teneur en cyanures.

Voir aussi Chlorure de cyanogène, Thiocyanates.

DBO_5 (demande biochimique en oxygène)

Les phénomènes d'autoépuration naturelle dans les eaux superficielles résultent de la dégradation des charges organiques polluantes, sous l'action de micro-organismes. Il en résulte une consommation d'oxygène qui s'exprime par la demande biochimique en oxygène ou DBO_5 (cf. § D-2.8). La dégradation des composés glucidiques, lipidiques et protéidiques des matières organiques se traduit, dans un premier temps, par une décomposition des chaînes carbonées. Celle-ci commence immédiatement et dure environ 20 jours à la température de 20 °C ; par contre le début de la transformation des matières azotées n'apparaît qu'après une dizaine de jours et demande beaucoup plus de temps. Dans ces conditions, il a été conven-

tionnellement retenu d'exprimer la DBO_5 en milligrammes d'oxygène consommé pendant 5 jours à 20 °C afin de ne prendre en compte que l'oxydation carbonée.

Bien qu'il n'existe pas de norme pour les eaux potables, il est bien évident que celles-ci ne doivent pas avoir une DBO_5 significative. Pour les eaux superficielles destinées à la production d'eau destinée à la consommation humaine, la réglementation actuelle (européenne et française) indique les limites de qualité que doivent respecter les eaux selon leur qualité et le traitement qui sera mis en œuvre (groupe A1 à A3). Pour un traitement physique simple suivi d'une désinfection (groupe A1), la valeur guide est de 3 mg/L d'O_2. Dans le cas d'un traitement physique et chimique précédant une désinfection (groupe A2), la valeur guide est portée à 5 mg/L d'O_2 et elle peut s'élever jusqu'à un maximum de 7 mg/L d'O_2 si le traitement mis en œuvre est encore plus poussé et fait intervenir une étape d'affinage (groupe A3).

Le paramètre DBO_5 est utilisé pour établir un classement qualitatif des eaux et définir l'altération du milieu par les matières organiques biodégradables.

	Qualité
$DBO_5 < 3$	Très bonne
$3 < DBO_5 < 5$	Bonne
$5 < DBO_5 < 8$	Moyenne
$DBO_5 > 8$	Mauvaise, voire très mauvaise

Dans les eaux naturelles peu polluées, c'est la méthode de détermination dite « autoconsommation en oxygène » qui devra être mise en œuvre (cf. § A-9.3).

Le paramètre DBO est utilisé pour évaluer la charge organique des eaux résiduaires et dimensionner les ouvrages d'épuration. Il est donc important d'effectuer cette détermination avec le plus grand soin. Pour les eaux résiduaires urbaines, la détermination de la DBO_5 ne pose pas de problèmes particuliers, étant donné que le *p*H de ces eaux est favorable à la croissance des bactéries qui assurent la biodégradation et que des microorganismes adaptés à la biodégradation sont généralement présents dans ces eaux. Ce n'est pas le cas pour toutes les eaux résiduaires industrielles, pour lesquelles la détermination de la DBO doit faire l'objet d'un soin particulier (conformément aux méthodes normalisées) : utilisation de microorganismes adaptés, correction du *p*H si nécessaire, étude de la présence éventuelle de composés toxiques inhibiteurs, inhibition des organismes nitrificateurs par apport d'allyl thio-urée, ajout des nutriments et des oligo-éléments nécessaires à la biodégradation. Si ces contraintes ne sont pas respectées, le résultat risque d'être erroné et de fausser l'interprétation des données.

Des périodes d'incubation alternatives aux 5 jours habituels peuvent être utilisées pour la détermination (DBO_{2+5}, DBO_7) sans altérer la signification du test (cf. § D-2.8.1). Quant à l'utilisation des méthodes respirométriques (cf. § D-2.8.3) elle permet d'accéder à des informations très intéressantes pour la compréhension de la biodégradabilité de l'eau analysée (phase de latence, inhibition par des composés toxiques).

Voir aussi Carbone organique total, Matières organiques, Oxydabilité au permanganate de potassium.

DCO (demande chimique en oxygène)

Dans les conditions expérimentales définies par la méthodologie, la DCO correspond à la teneur de l'ensemble des matières organiques oxydables. Elle s'exprime par la quantité d'oxygène fournie par le dichromate de potassium et nécessaire à l'oxydation des substances organiques (protéines, glucides, lipides, etc.) présentes dans les eaux résiduaires. Étant donné les conditions opératoires (température), le pouvoir oxydant du réactif ($K_2Cr_2O_7$) et l'emploi d'un catalyseur (Ag_2SO_4), les résultats sont plus élevés que ceux obtenus avec le permanganate de potassium. Cependant, d'une façon générale, les composés azotés ainsi que certains noyaux aromatiques et certaines chaînes aliphatiques peuvent échapper à l'oxydation. Les différences des résultats obtenus par la DCO et la DBO_5 constituent une indication de l'importance des matières polluantes peu ou pas biodégradables (cf. § D-2.15.1).
En France, la qualification des effluents au titre des redevances pour les agences de l'eau utilise la DCO pour déterminer les matières oxydables (MO) de l'eau selon :

$$\frac{2\ DBO_5 + DCO}{3}$$

La présence d'ions chlorure à forte concentration peut conduire à une surévaluation de la DCO. Il est donc important d'éliminer cette interférence par ajout de sulfate mercurique qui conduit à la formation de chloromercurate (II), soluble et peu oxydable.

D'autres composés réducteurs sont oxydés par le dichromate de potassium (Fe^{2+}, S^{2-}…) et conduisent à des valeurs de DCO par excès. Même si certains utilisateurs n'hésitent pas à prendre en compte cette valeur globale en matières oxydables (organiques et minérales), il est préférable de considérer la DCO comme un indicateur de la teneur en matière organique oxydable et de tenter de limiter autant que faire se peut les interférences liées aux composés minéraux. C'est le cas en particulier lorsque l'on souhaite comparer les valeurs de DCO et de DBO pour déterminer l'aptitude d'une eau à la biodégradation (cf. § D-2.15).

Pour les eaux superficielles destinées à la production d'eau alimentaire, une valeur guide de 30 mg/L d'O_2 est fixée par la réglementation actuelle, le traitement à appliquer étant du type physique, chimique avec décontamination microbienne et affinage.

Dichloroisocyanurate de sodium

En pratique, le dichloroisocyanurate de sodium est dissocié dans l'eau en isocyanurate et en hypochlorite de sodium. Le consommateur est en conséquence essentiellement exposé au risque présenté par l'acide isocyanurique.

Les propriétés désinfectantes du dichloroisocyanurate sont dues au chlore produit au cours de son hydrolyse mais également à l'acide isocyanurique

dont l'action est plus lente que celle de l'acide hypochloreux. Pour la désinfection de l'eau, les doses de chlore recommandées sont comprises entre 1 et 10 mg/L soit 1,7 à 17 mg/L de dichloroisocyanurate de sodium. Le temps de contact doit être suffisant et précisé par le fournisseur.

L'étude toxicologique du dichloroisocyanurate de sodium montre que la dose maximale sans effet pour l'espèce la plus sensible (le rat) est de 50 mg/kg/j pour le dichloroisocyanurate de sodium et de 154 mg/kg/j pour l'isocyanurate de sodium.

Le dichloroisocyanurate est irritant pour la peau et les muqueuses, sa toxicité systémique est faible. L'isocyanurate de sodium n'a pas d'action irritante, sa toxicité systémique est très faible. Cette évaluation toxicologique ne tient pas compte de la toxicité des substances formées par réaction du chlore sur les matières organiques (chloramines, chlorophénols, etc.) ni des impuretés et des adjuvants présents dans les préparations commerciales.

Voir aussi Acide isocyanurique.

Dioxine

La dioxine ou tétrachlorodibenzoparadioxine (TCDD-2,3,7,8) fait partie des dérivés halogénés d'hydrocarbures polycycliques oxygénés (cf. § A-10.13). Cette substance n'a pas d'utilisation industrielle mais constitue un produit de dégradation thermique du pyralène (mélange de PCB et de trichlorobenzène). Elle est entrée dans l'histoire de l'environnement avec l'accident de Seveso. Elle se caractérise par une forte liposolubilité, une biodégradation très lente, une grande stabilité à la chaleur, tout ceci se traduisant par une rémanence importante dans le milieu naturel.

L'intoxication se manifeste par une perte de poids et surtout la formation de chloracné. Il a été également noté des atteintes hépatiques et rénales. La toxicité de la dioxine est très variable suivant les espèces animales. Les études expérimentales ont montré qu'elle est mutagène, tératogène et cancérogène, et ceci pour des doses souvent très faibles. Parmi les nombreuses études épidémiologiques sur des sujets ayant été exposés dans leur milieu professionnel à la dioxine, une seule a montré une surmortalité par cancer gastrique. La surmortalité par hépatocarcinome observée au Viêtnam chez les populations soumises aux effets d'un défoliant (mélange d'herbicides : 2,4-D et 2,4,5-T contenant du TCDD jusqu'à 100 ppm) n'a pas été prouvée au plan épidémiologique. À Seveso, si on est encore loin de disposer de résultats définitifs non controversés, il semblerait qu'il y ait une augmentation de certaines formes de cancers (voies biliaires et urinaires) ; par contre, il n'apparaît pas d'augmentation significative de cas de malformations de fœtus.

Voir aussi Polychlorobiphényles.

Dioxyde de chlore

Le dioxyde de chlore (cf. § A-13.3) est un oxydant puissant. Utilisé comme désinfectant de l'eau, il permet aussi de corriger le goût et les odeurs.

S'il est préparé par action du chlore (en léger excès) sur du chlorite de sodium, le dioxyde de chlore contient des traces de chlore, ce qui présente l'inconvénient de former des composés organohalogénés et de conduire à la production de traces de chlorates (cf. § A-13.3.1. Chimie et réactivité du dioxyde de chlore).

Le dioxyde de chlore réagit avec certains composés minéraux présents dans les eaux (Fe^{2+}, Mn^{2+}, S^{2-}, NO_2^-, CN^-, Br^-, I^-…) et il possède une bonne réactivité avec les composés organiques (substances humiques en particulier). Comparativement au chlore, il ne conduit qu'à une faible production de composés organohalogénés (TOX). Cette action sur la matière organique ou minérale s'accompagne de la réduction du dioxyde de chlore en ions chlorite, avec une production de chlorites qui correspond à environ 0,6 à 0,7 mg par mg de dioxyde de chlore consommé. La toxicité de cet ion chlorite a conduit à fixer une référence de qualité de 200 µg/L (réglementation française) permettant de contrôler le fonctionnement des installations de production d'eau potable.

Dureté totale

L'expression « dureté de l'eau » (cf. § A-5.9) semble venir de ce qu'il était « dur » de laver avec une telle eau.

Sauf exceptions très particulières, la dureté a un caractère naturel lié au lessivage des terrains traversés et correspond à la teneur en calcium et en magnésium. Il n'est pas facile de définir un niveau entre ce qui constitue une eau dure et une eau douce. Cependant, on peut considérer qu'une eau ayant une teneur inférieure à 75 mg/L de $CaCO_3$ (c'est-à-dire 7,5° de TH calcique) ou à 30 mg/L de Ca est une eau douce et qu'au-dessus, il s'agit d'une eau dure. Les eaux provenant de terrains calcaires et surtout de terrains gypseux peuvent avoir des duretés très élevées susceptibles d'atteindre 1 g/L de $CaCO_3$. Par contre, les eaux en provenance de terrains cristallins, métamorphiques ou schisteux auront des duretés très faibles.

Les eaux de surface, généralement moins riches en acide carbonique et en oxygène dissous que les eaux souterraines, ont une dureté moins élevée que ces dernières.

En ce qui concerne les eaux destinées à la consommation humaine, on considère en France qu'environ 30 % de la population reçoit une eau dont la dureté est supérieure à 30 ° français et environ 10 % une eau dont la dureté est inférieure à 8° français. En France, les eaux dures se rencontrent surtout dans les bassins Artois-Picardie, Seine-Normandie et Rhône-Méditerranée-Corse, et les eaux douces dans les départements de la Loire, du Finistère, de la Haute-Vienne, des Vosges, etc.

Une faible dureté ne permet pas l'élaboration de couche carbonatée pouvant participer à une protection des canalisations contre certains risques de

corrosion ; par contre, une dureté élevée constitue un risque important d'entartrage des canalisations.

Certains conditionnements des eaux pour limiter l'entartrage (ajout de polyphosphates, procédés électro-magnétiques) peuvent conduire à la formation de boues non incrustantes mais qui seront susceptibles de se déposer dans des circuits de faible circulation et provoquer des points de corrosion et des obstructions. D'un point de vue domestique, une dureté élevée contribue également à accroître la consommation de savon ainsi que le temps de cuisson des légumes.

Au cours de ces dernières décennies, un certain nombre d'études épidémiologiques pratiquées au Japon, en Angleterre et aux États-Unis ont fait apparaître qu'il semblait exister un pourcentage plus élevé de mortalité par affections cardio-vasculaires, dans les régions où sont distribuées des eaux douces. Cependant, l'apport alimentaire minéral est très largement majoritaire par rapport à la quantité de minéraux apportée par l'eau ; de plus, le calcium de l'eau n'est que peu absorbé par l'intestin. Si tous les chercheurs ont évoqué une corrélation inverse, aucun n'a parlé de causalité. Par contre, une étude sur trois communautés de Los Angeles indique qu'il n'y a pas de corrélation entre le degré de dureté de l'eau et la fréquence des affections cardiaques ainsi qu'avec la mortalité infantile. Certains auteurs avancent que le problème de la dureté pourrait masquer celui posé par l'absence de certains éléments indispensables à l'état de traces (calcium, chrome, cuivre, lithium, magnésium, manganèse, vanadium) ou par la présence d'éléments provenant de la corrosion. Toutefois, l'apport alimentaire minéral compense très largement cette absence éventuelle. D'autres pensent que les eaux dures peuvent limiter le transfert intestinal des ions métalliques toxiques (cadmium, cuivre, plomb, zinc) en même temps que, contrairement aux eaux douces, elles évitent leur dissolution dans le milieu et dans les systèmes de distribution. En fait, les épidémiologistes ne sont pas arrivés à des conclusions formelles concernant l'influence des eaux douces dans la genèse des affections cardio-vasculaires et l'anatomie pathologique n'a pas confirmé l'action bénéfique des eaux dures. En ce qui concerne l'influence de la dureté de l'eau sur la mortalité infantile, il n'apparaît pas, étant donné les autres facteurs (sociaux, soins obstétricaux, maternité), que l'on puisse conclure, comme certains auteurs, que moins une eau contient de calcium, plus la mortalité infantile s'accroît.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS ne recommande pas de valeur mais indique qu'une dureté élevée peut provoquer la formation de dépôts tandis qu'une faible dureté peut engendrer des problèmes de corrosion. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française n'indiquent pas de valeurs pour les eaux livrées à la consommation humaine. Pour les eaux douces ou les eaux ayant subi un traitement d'adoucissement collectif, la réglementation française mentionne que l'eau ne doit pas être agressive. Cette disposition n'est pas applicable aux eaux adoucies ou déminéralisées ayant subi un traitement thermique pour la production d'eau chaude.

Il est à noter que, dans certaines décharges, la décomposition de la partie végétale peut conduire à la libération de grandes quantités d'anhydride carbonique ; celui-ci entraîné dans les eaux souterraines par infiltration des

eaux de pluie, peut dissoudre le calcium du sol et contribuer à des variations de la dureté.

En ce qui concerne la vie aquatique, les eaux dures (plus de 150 mg/L $CaCO_3$: 15° français) peuvent gêner le développement de la couverture biologique des eaux. Par contre, une eau douce peut contrarier le développement des mollusques et des crustacés.

Voir aussi Alcalinité, Calcium, Hydrotimétrie, Magnésium, *TA*, *TAC*.

EDTA (acide éthylènediamine tétracétique)

Cet agent chélateur ou séquestrant a la propriété de se combiner avec des ions positifs bi- ou trivalents tels que le calcium, le cuivre, le plomb, le fer et le chrome... en donnant des complexes particulièrement stables. Il se forme un composé de structure « en anneau » dans lequel l'ion métallique capté est lié de façon spécifique à d'autres atomes. Devenu partie intégrante de l'anneau, il perd de ce fait ses propriétés ioniques. L'EDTA ayant quatre atomes d'hydrogène remplaçables, il peut donner des sels mono-, di-, tri- ou tétrasodiques de plus en plus solubles. L'intérêt pratique de l'EDTA est de former avec de nombreux métaux des complexes internes cyclisés solubles dans l'eau et non ionisés. L'EDTA est utilisé en particulier dans les générateurs de vapeur pour éviter les précipitations de calcium, de magnésium et d'autres sels de métaux et permettre dans certaines conditions l'élimination de dépôts de ces éléments. Très largement utilisé dans l'industrie chimique, les papeteries et les tanneries, il est aussi très employé dans l'industrie nucléaire pour les traitements de surface destinés à décontaminer les matériels en éliminant les particules radioactives (produits de fission et d'activation). Du fait que les propriétés physico-chimiques d'un métal chélaté sont différentes de celles de sels métalliques ou des composés organométalliques habituels, les composés ainsi formés échappent plus facilement aux traitements classiques d'épuration des eaux.

L'absorption de l'EDTA par voie intestinale est faible ainsi que sa toxicité. Ce produit se dégrade difficilement dans le milieu aquatique. Des concentrations de l'ordre du mg/L ont été retrouvées dans les eaux naturelles.

Les connaissances sur sa cancérogénicité et sa mutagénocité sont limitées. L'OMS recommande une valeur guide provisoire de 200 µg/L.

Étain (et composés organostanniques)

La répartition de l'étain dans l'écorce terrestre a un caractère hétérogène. De ce fait, cet élément n'est pas toujours rencontré dans les sols et les végétaux. Généralement, les teneurs sont inférieures à 200 mg/kg sauf dans des régions stannifères. Le minerai principal est la cassiterite (oxyde d'étain valence 4). La production mondiale d'étain est d'environ 225 000 tonnes/an dont 70 % proviennent des minerais, le reste étant obtenu à partir de métaux de récupération.

L'étain est utilisé dans les alliages industriels (bronze, régule), dans les alliages pour l'imprimerie, en chimie industrielle (catalyseurs et base de pigments colorés), dans les amalgames dentaires et pour la soudure. Son usage le plus important est l'étamage. Les sels d'étain sont aussi employés dans l'industrie du verre et pour le traitement de la soie. Les dérivés organostanniques sont utilisés pour la stabilisation des matières plastiques, la protection du bois et des textiles, comme pesticides, fongicides, herbicides et acaricides, etc. Ils peuvent faire retour à l'homme par l'intermédiaire des chaînes alimentaires.

La présence de l'étain tant dans les eaux de surface que dans les eaux de distribution, à des teneurs de l'ordre de quelques microgrammes à quelques dizaines de microgrammes par litre n'a qu'un caractère occasionnel (cf. § A-7.25). La teneur de l'eau de mer est de l'ordre de 3 μg/L.

Les composés organostanniques (cf. § A-10.22) sont des produits qui possèdent au moins une liaison directe carbone-étain. Dans la plupart des cas, l'étain est à la valence 4. La toxicité des produits est très différente suivant que le dérivé est mono-, di-, tri- ou tétrasubstitué. Ce sont les trialcoylés qui donnent les accidents les plus graves ; peut-être étaient-ils associés au diiodure de diéthylétain (Stalinon) employé dans le traitement de la furonculose qui fut à l'origine d'une centaine de morts en 1954. Ces produits sont des inhibiteurs de la phosphorylation oxydative qui constitue le mécanisme fondamental de la production d'énergie dans la cellule. L'intoxication est caractérisée par des signes neurologiques avec maux de tête, vertiges, troubles sensoriels, auxquels peut s'ajouter une encéphalopathie hyperthermique. L'absorption gastro-intestinale des composés d'étain minéral varie en fonction du degré d'oxydation, les sels divalents s'absorbant plus facilement que les sels tétravalents. Ce métal se concentre plus particulièrement au niveau des poumons, des reins, du foie et des os ; son élimination se fait principalement par les urines. Les dérivés organostanniques s'absorbent plus facilement que les dérivés inorganiques. L'excrétion des organostanniques dépend du type du composé, certains étant principalement excrétés par les urines, d'autres s'éliminant avec les fèces et la bile. Les expérimentations n'ont pas mis en évidence que les composés organostanniques étaient cancérigènes ou tératogènes. Les denrées alimentaires constituent l'apport principal d'étain chez l'homme. Dans un régime équilibré, la concentration moyenne de l'étain est de l'ordre de 1 mg/kg. Cette teneur peut s'élever à plusieurs dizaines de milligrammes par kg dans le cas d'une consommation importante de conserves. En moyenne, l'apport alimentaire quotidien serait de l'ordre de 1 à 4 mg, l'apport hydrique inférieur à 30 μg et l'inhalation ne dépasserait pas 1 μg. Compte tenu de la toxicité limitée de l'étain et de ses sels minéraux et de la très faible quantité absorbée avec l'eau par rapport à celle ingérée avec les aliments, aucun pays ainsi que l'OMS n'ont fixé de valeur limite. La présence d'étain dans l'eau des brasseries à une teneur supérieure à 0,1 mg/L entraîne une turbidité de la bière et lui confère un aspect peu engageant.

Dialkylétain et tributylétain

Les dialkylétains peuvent être libérés par les conduites en PVC neuves. Leur toxicité est faible. Aucune valeur guide n'est proposée par l'OMS.

L'emploi de sels organiques d'étain comme le tributylétain, dans les peintures de protection des coques de bateau contre les algues, parasites, etc. s'est largement répandu ces dernières années. Dans les zones conchylicoles, le développement des espèces peut être perturbé par des teneurs de quelques µg/L d'eau. Aussi des dispositions réglementaires ont été prises début 1982 pour interdire l'emploi de peintures contenant plus de 3 % de composés organostanniques.

Oxyde de tributyl étain

Ce produit n'est pas génotoxique et sa cancérogénicité n'est pas établie. L'OMS indique pour l'eau destinée à la consommation humaine une valeur guide de 2 µg/L.

Fer

Très répandu, le fer se classe au 4e rang des éléments de la croûte terrestre. Il est largement utilisé dans la métallurgie et ses utilisations secondaires dans la chimie sont très variées.

Les eaux de surface peuvent contenir jusqu'à quelques mg/L de fer (cf. § A-7.26) ayant pour origine la lixiviation des terrains traversés ou les pollutions industrielles ; dans les eaux de distribution, il provient le plus souvent de la corrosion des conduites d'amenées ou de l'emploi de sels de fer pour les traitements de coagulation-floculation, en particulier dans le cas d'une mauvaise maîtrise des opérations. Le fer peut se rencontrer jusqu'à 10 mg/L dans les eaux de sondage. Les eaux minérales et principalement les eaux thermominérales peuvent en contenir plus de 10 mg/L (Bussang, Charbonnières, Forges, Saint-Nectaire source rouge, Vals source Saint-Dominique).

Ce métal à l'état ferreux est assez soluble dans l'eau ; il précipite à la suite du dégagement de l'anhydride carbonique et par oxydation à l'air. Suivant les cas, il pourra exister en solution à l'état colloïdal, sous forme de complexes organiques ou minéraux, notamment si des polyphosphates sont utilisés dans le traitement de l'eau. Dans les zones alluvionnaires, l'eau extraite de la nappe peut avoir une teneur en fer et éventuellement en manganèse supérieure à l'eau infiltrée à partir du cours d'eau ; ceci peut s'expliquer par la concentration d'ions métalliques au niveau des boues tapissant le lit des rivières. Dans cette zone, l'activité cellulaire développe une anaérobiose conduisant à la réduction du fer et du manganèse et à leur solubilisation. Ces éléments peuvent précipiter par réoxydation à l'émergence.

Étant donné les quantités importantes apportées par l'alimentation de l'ordre de 15 à 25 mg/j (viande : 20 à 40 mg/kg ; poisson : 10 mg/kg ; lait : 1 à 4 mg/kg ; pain : 20 à 40 mg/kg ; fruits et légumes : 5 à 10 mg/kg) le fer de l'eau ne présente aucun inconvénient au point de vue physiologique. Les besoins pour l'organisme humain se situent entre 2 et 3 mg/j, mais 60 à 70 % seulement de la quantité ingérée par les aliments sont métabolisés. Les seules intoxications signalées ont été liées à l'absorption de sul-

fate de fer chez les enfants. La symptomatologie quelquefois sévère, est essentiellement à caractère digestif.

Les effets toxiques liés à la quantité de fer alimentaire ingérée peuvent apparaître au-delà de 20 mg/kg de poids corporel. La dose létale chez l'homme est estimée à 250 mg/kg.

Indépendamment d'une saveur désagréable pouvant être perçue à partir de 0,05 mg/L, le fer développe dans l'eau une turbidité rougeâtre peu engageante pour le consommateur. Enfin, les eaux ferrugineuses ont l'inconvénient de tacher le linge. Il existe certaines bactéries très avides de fer : ces ferrobactéries se fixent sur les parois des canalisations et entraînent des phénomènes de corrosion avec formation de concrétions volumineuses et dures.

En milieu hydrogéné ou désoxygéné, l'oxydation du fer donne finalement un mélange d'oxydes (Fe_2O_3 , FeO) dont le volume spécifique est deux fois supérieur à celui du métal initial. L'oxydation a tendance à se poursuivre dans le temps car la couche d'oxyde formée est poreuse, plus ou moins friable et peu protectrice ; il s'ensuit la formation de boues avec tous leurs inconvénients.

Les limites adoptées dans les réglementations ont été retenues pour pallier les inconvénients ménagers et non pour éviter des accidents toxiques, les eaux ferrugineuses contenant plus de 5 mg/L pouvant être ingérées sans danger. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de risques de taches sur les appareils sanitaires, l'OMS recommande une valeur guide de 0,3 mg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes indique un niveau guide de 0,2 mg/L. La réglementation française retient cette même valeur de 0,2 mg/L comme référence de qualité. En fait, si l'on veut éviter tous les inconvénients (goût, couleur, précipité, taches sur le linge), l'eau de distribution ne devrait pas avoir une teneur en fer supérieure à 0,05 mg/L. En France, on considère que moins de 1 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuaient une eau dont la teneur moyenne en fer est supérieure ou égale à 0,2 mg/L.

L'élimination du fer peut se faire par oxydation-aération suivie d'une filtration ou par oxydation biologique, quand il est présent naturellement dans les eaux souterraines. Lorsqu'il s'agit d'eaux superficielles, c'est par voie physico-chimique (oxydation et/ou coagulation et filtration) qu'il est éliminé.

La toxicité pour la vie aquatique est difficile à préciser, car elle est fonction de l'état chimique du métal, le fer ferreux étant beaucoup plus toxique que le ferrique, et de la présence de précipité d'hydroxyde de fer qui tend à se déposer sur les branchies des poissons et à entraîner leur colmatage.

Pour les usages industriels, en particulier pour les industries alimentaires (sucreries, brasseries, boissons gazeuses), il est recommandé de ne pas dépasser 0,2 mg/L.

Fluor (Fluorure)

Le fluor qui appartient à la famille des halogènes, est l'élément le plus électro-négatif et par suite l'oxydant le plus puissant de la chimie. Du fait de sa grande réactivité, il ne se rencontre pas à l'état libre dans la nature. Le terme « fluor » désigne soit l'atome de fluor F, soit le gaz F_2 ; celui de « fluorures » couvre les dérivés organiques et minéraux, ionisés ou non, contenant un atome de fluor. Le fluor, très abondant dans l'écorce terrestre (750 à 800 mg/kg), est très répandu tant dans le règne animal que végétal.

Les principaux minéraux contenant du fluor sont la fluorine ou spath fluor (CaF_2), la cryolithe ou aluminofluorure de sodium (AlF_3 , 3 NaF) et l'apatite fluorée ([3 $Ca_3(PO_4)_2$] CaF_2). La fluorine qui renferme jusqu'à 49 % de fluor est la plus répandue, la cryolithe la plus utilisée. L'apatite est le constituant essentiel des phosphates utilisés comme engrais et dont des gisements très importants existent aux États-Unis, en ex-URSS, en Afrique du Nord. Lors de l'élaboration des superphosphates et de l'acide phosphorique à partir de l'apatite fluorée, il se produit un dégagement d'acide fluorhydrique qui forme avec la silice du tétrafluorure de silicium (SiF_4) et de l'acide fluosilicique (H_2SiF_6). Le fluor et ses dérivés sont assez largement utilisés industriellement : fabrication de l'aluminium, de l'hexafluorure d'uranium (enrichissement de l'uranium 235), industries du verre et de la céramique, catalyseurs, traitements de surface, dérivés organiques et minéraux, insecticides, etc.

En raison d'échanges ioniques, les eaux en provenance de nappes captives peuvent avoir des teneurs en fluor significatives et doivent de ce fait être soigneusement contrôlées (cf. § A-7.27). Sauf cas particuliers, la concentration des eaux de surface est généralement inférieure à 1 mg/L ; en France, environ 91 % des eaux distribuées ont une teneur inférieure à 0,3 mg/L.

Une enquête récente du ministère de la Santé, réalisée en France, a montré qu'entre 1 et 1,5 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuaient une eau dont la teneur moyenne en fluor était supérieure ou égale à 1,5 mg/L. Certaines eaux minérales sont connues pour renfermer des teneurs importantes en fluor (Marceau, Bassin de St-Yorre : 9,4 mg/L ; Vichy Grande grille : 8,2 mg/L ; Vichy Hôpital : 7,2 mg/L, Badoit : 1,5 mg/L). L'eau de mer en contient de 0,8 à 1,4 mg/L. Dans les eaux de surface, la présence de fluor est surtout liée aux rejets des unités de production d'acide phosphorique et d'engrais phosphatés, ainsi qu'à ceux des usines d'aluminium dont le principe de fabrication est l'électrolyse d'une solution d'alumine dans la cryolithe fondue (AlF_3 , 3 NaF). Le traitement de l'uranium (UF_4 , UF_6), est aussi susceptible d'entraîner des rejets de composés fluorés.

Les opérations particulières susceptibles d'introduire des poussières fluorées dans l'atmosphère sont le broyage, la calcination, la fusion des minéraux contenant du fluor et le traitement électrochimique pour la fabrication de l'aluminium. Dans ces installations (tours de lavage en particulier), les efforts faits pour diminuer la pollution atmosphérique peuvent avoir pour conséquence un accroissement de la charge en fluor des eaux de surface par les rejets liquides. Dans les eaux de surface polluées par les rejets

industriels, le fluor peut se présenter sous forme de complexes (aluminium, bore, silice, etc.). Dans l'air, les teneurs en fluorures sont généralement inférieures à 1 μg de F^- par m^3. Toutefois, la pollution industrielle, la combustion du charbon, l'activité volcanique conduisent à une élévation de cette teneur, y compris dans les précipitations atmosphériques.

La dose mortelle de fluorure de sodium pour l'homme est d'environ 5 g. Cette toxicité est rapportée à une précipitation du calcium (indispensable à la coagulation) et à une complexation du fer et du magnésium, éléments essentiels à l'action de certains enzymes. Il ne faut cependant pas développer une psychose des fluoroses mais surveiller les doses ingérées.

Le fluor et ses dérivés font partie de l'environnement humain normal car ils sont largement répartis dans la nature et de ce fait présents, à des concentrations variables, dans presque tous les aliments. Suivant les auteurs, l'apport alimentaire varie de 0,5 à 2 mg/j. L'emploi de fluorures en cariioprophylaxie montre que 90 % des fluorures administrés sont métabolisés dans l'organisme. L'absorption du fluor se fait par diffusion tout au long du tube digestif, la rapidité étant fonction de la solubilité des fluorures et de l'acidité gastrique. D'une façon générale, pour une absorption régulière, il s'établit un équilibre entre l'absorption et l'élimination urinaire ; en l'absence d'autres apports fluorés, la concentration urinaire reflète assez bien la concentration de l'eau de boisson. L'excrétion se fait principalement par les urines, mais aussi de façon variable par la sueur et peu par les fèces. L'accumulation dans l'organisme a lieu surtout dans les tissus sujets à calcification, et dans les reins. Sensiblement la moitié du fluor ingéré se dépose au niveau du squelette, l'autre moitié est éliminée par les urines.

En raison de sa grande affinité avec les phosphates de calcium, le fluor est de tous les éléments le plus exclusivement ostéotrope. Dans les os, qui contiennent 96 % de la charge de l'organisme, le fluor entraîne un accroissement de la taille des cristaux d'apatite et diminue leur solubilité.

Une exposition prolongée et intense, de l'ordre de 10 à 40 mg/j peut être à l'origine de manifestations d'ostéopathies susceptibles d'être observées au niveau du squelette. Des phénomènes d'ostéoporose ont été signalés chez des sujets ayant consommé pendant de longues périodes de l'eau contenant plus de 6 mg/L de fluor. De même, il a été observé des modifications osseuses chez les malades ayant été dialysés avec de grandes quantités d'eau fluorée et chez des buveurs de thé ayant une longue histoire d'insuffisance rénale. Il semble exister une relation plus ou moins linéaire entre la teneur de l'eau potable en fluorures et la concentration osseuse en fluor. Ainsi, un individu consommant de l'eau à 1 mg/L présenterait une concentration osseuse de 1 000 mg de F^- par kg de poudre d'os sec, les sujets buvant de l'eau à 2 mg/L aurait un taux de 2 000 mg de F^- par kg de poudre d'os sec et ainsi de suite. De même, la concentration plasmatique du fluor varierait avec la teneur de l'eau consommée.

Dans les zones à gisements de phosphates, qui peuvent présenter des teneurs très élevées de fluoroapatite, le fluor peut être à l'origine de fluoroses et, en particulier, d'altérations dentaires connues sous le nom de *Mottle Enamel* chez les Anglo-Saxons, et de *Darmous* en Afrique du Nord. Elles signent les perturbations survenues pendant l'amélogénèse et liées à l'in-

gestion de quantités de fluor élevées. Elles se caractérisent surtout par des lésions dentaires constituées par des altérations de l'émail et plus rarement des lésions gingivales et alvéolaires. L'émail peut être tacheté en brun ou en blanc avec des stries, des bandes ou encore présenter l'aspect caractéristique de dents « crayeuses ». Cette forme chronique peut s'aggraver avec une symptomatologie neuro-musculaire et s'accompagner de manifestations gastro-intestinales.

Il n'y a pas de preuve scientifique du rôle que pourrait jouer le fluor dans les phénomènes allergiques, le mongolisme et le cancer.

L'Agence internationale pour la recherche sur le cancer a classé dans le groupe 3 (effet carcinogène non prouvé) les fluorures inorganiques utilisés dans la fluoration de l'eau. Aucun lien n'a été établi entre l'élévation de la concentration des fluorures et l'augmentation de la mortalité par cancer.

Chez l'homme, il a été établi qu'une eau contenant 5 mg/L de fluor cause un type sévère d'« émail marbré » : l'émail étant creusé et corrodé, il n'y a pas seulement modification des dents en apparence, mais aussi des altérations de la structure et une diminution de la solidité. Toutefois, des atteintes de fluoroses dentaires plus limitées (taches, coloration) peuvent apparaître avec des valeurs inférieures, de l'ordre de 1,5 à 2 mg/L.

Les expériences d'addition de fluor à l'eau ou aux aliments pratiquées dans plusieurs pays ont montré que cet halogène est susceptible de limiter l'apparition de la carie dentaire, maladie bactérienne non spécifique. Dans la cavité buccale, la salive, à température et à *p*H réguliers, constitue un support pour de nombreuses bactéries. Parmi celles-ci peuvent se développer des bactéries dites cariogènes (streptococcus mutans, sanguis, actinomyces).

Cette prolifération est favorisée par une alimentation riche en saccharose qui est transformé par les bactéries en polysaccharides (dextranes). Ces derniers, insolubles, constituent une matrice dite plaque dentaire qui, enduisant les dents, sert de support aux germes. La glycolyse des glucides conduit à la formation d'acides lactique, proprionique et butyrique qui sont susceptibles d'attaquer la couche superficielle de l'émail dentaire et la dentine. Le fluor permet de diminuer la solubilité de l'émail dans les acides en donnant du fluoroapatite plus stable que l'hydroxyapatite ; en même temps que se développe son action bactériostatique, il limite par inhibition enzymatique la formation des acides organiques.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS fixe une valeur guide de 1,5 mg/L et précise que les normes spécifiques à chaque pays devraient tenir compte des conditions climatiques, de la quantité d'eau consommée ainsi que des autres apports éventuels. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent que la teneur en fluor doit être inférieure à 1,5 mg/L. Il faut noter que l'ancienne réglementation (décret 89/3) précisait que cette limite de 1,5 mg/L doit être respectée pour une température moyenne de l'aire géographique considérée comprise entre 8 °C et 12 °C alors qu'elle est de 0,7 mg/L pour une température moyenne de l'aire géographique considérée comprise entre 25 °C et 30 °C.

Les expériences d'addition de fluorure à l'eau, comme cariostatique, doivent donc tenir compte de ces limites ; mais la marge est étroite entre la dose néfaste et la dose préventive. Certains pays qui pratiquaient la fluoration l'ont interrompue ; en France, cette pratique n'a jamais été autorisée. En effet, l'apport alimentaire étant variable, des quantités excessives pourraient être absorbées. Par ailleurs, la difficulté pratique d'introduction de cet élément dans les eaux est importante et nécessite un contrôle rigoureux pas toujours aisé à réaliser en permanence. Cependant, les experts de l'OMS ont montré que l'ingestion d'une certaine quantité de fluorures, en particulier lorsqu'elle est continue depuis la première enfance, assure à la dentition une protection contre la carie sans effet néfaste sur son aspect et sur le périodonte. Dans les zones tempérées, et lorsque la nutrition est correcte, la fluoration de l'eau de boisson est conseillée jusqu'à une teneur de 1 à 1,2 mg/L. Cette teneur doit être diminuée dans les zones à climat chaud. En pratique, la concentration habituellement utilisée est de 1 mg/L. Avec cette dose, il n'a pas été relevé de phénomènes d'intoxication ni de modifications biologiques significatives. En l'absence d'eau fluorée, l'apport fluoré, à raison de 0,05 mg/kg de poids corporel de la naissance jusqu'à 18-20 ans, a été recommandé pour faciliter l'élaboration de la dent en phase pré-éruptive, renforcer la minéralisation de l'émail et lutter contre l'action cariogène.

Aux États-Unis, la ville de Grand Rapids (Michigan) a été la première ville où l'eau a été traitée par les fluorures. L'*American Dental Association* vient de célébrer le 50e anniversaire de cette fluoration. 135 millions d'Américains bénéficient de ce traitement. Une étude a montré que grâce à la fluoration de l'eau potable, la moitié des enfants entrant dans le primaire n'ont jamais eu de caries.

L'emploi de comprimés, sel, gels, dentifrices, bains de bouche, chewing gums, etc. fluorés peut aider à la recherche de l'équilibre fluoré. En France, la fluoration du sel est autorisée par l'arrêté du 23 juin 1993, à raison de 250 mg/kg $\pm$ 15 % (exprimés en ions fluorure). Toutefois, ce sel ne doit pas être consommé si l'eau de boisson contient plus de 0,5 mg/L de fluor. Il convient de signaler que la teneur maximale en fluor de l'eau utilisée pour la dilution des solutions concentrées pour hémodialyse ne doit pas être supérieure à 0,5 mg/L.

Du point de vue de la vie aquatique, des teneurs relativement élevées sont nécessaires pour entraîner une toxicité immédiate : jusqu'à 2 mg/L il n'y a pas d'effet sensible, la dose toxique pour le poisson étant de l'ordre de 50 mg/L.

Les fluoroses peuvent aussi se développer chez le bétail quoique pour les animaux vivant dans les zones phosphatières il soit bien difficile d'évaluer la quantité de fluor ingérée avec l'eau et celle absorbée avec les végétaux contaminés par des poussières de minerais.

Pour la défluoration, il existe plusieurs traitements (phosphate tricalcique, sulfate d'alumine, adoucissement à la chaux, etc.).

Formaldéhyde

Voir Aldéhydes.

Gallium

Le gallium (cf. § A-7.28) est associé comme impureté aux minerais d'aluminium, les blendes de zinc, la germanite (sulfure de cuivre) et la gallite. Assez répandu dans la nature à l'état de traces, on estime la teneur moyenne en gallium de la croûte terrestre à environ 0,0015 %. Il est très largement utilisé dans l'industrie électronique, pour la fabrication des semi-conducteurs.

Son absorption digestive est limitée probablement du fait de sa précipitation en composés insolubles (hydroxydes, phosphates, etc.). Les études expérimentales montrent que sa toxicité est variable suivant les espèces animales. Sa toxicité à long terme est encore mal définie.

Germanium

Le germanium (cf. § A-7.29) est associé comme impureté à un certain nombre de minéraux, à l'argent dans l'argyrodilite, au zinc dans la sphalérite, etc. La combustion du charbon en libère des quantités non négligeables. Le germanium est utilisé dans l'industrie électronique (semi-conducteurs, transistors, etc.), pour la fabrication des alliages, en optique (fabrication des lentilles) et dans l'industrie chimique comme catalyseur.

Il a été estimé que l'apport alimentaire quotidien est de l'ordre de 1 700 µg. La toxicité du germanium est considérée comme faible ; cependant, des cas d'intoxication chronique chez l'homme ont été enregistrés, avec atteinte hépatique et rénale.

Glycols, éthylène glycol

L'éthylène glycol appelé également glycol est un liquide visqueux à saveur sucrée, incolore et inodore. Ce produit est largement utilisé dans l'industrie chimique, dans les liquides hydrauliques et comme antigel. Du fait de sa solubilité dans l'eau et de son très large emploi comme antigel, il peut être à l'origine d'intoxications accidentelles graves, notamment par confusion avec une boisson dans le cas de stockage dans des récipients à usage alimentaire. La littérature fait également état d'intoxications à partir de l'ingestion de l'eau d'un chauffage central (absence de valve anti-retour) ; il a été aussi signalé des intoxications à la suite de la consommation en zone désertique de l'eau de radiateurs automobiles. Des épandages intempestifs peuvent conduire à des contaminations des eaux de surface et des nappes phréatiques. En présence d'une zone contaminée, avant de procéder à des lavages, il est préférable d'adsorber les liquides avec de la vermiculite et d'évacuer la terre contaminée. La dégradation dans l'eau est relativement rapide et fonction de la température (environ 3 jours à 20 °C). La dose létale chez l'adulte est de 1,4 mL/kg soit environ une centaine de millilitres pour un homme de 70 kg.

L'éthylène glycol induit la même dépression du système nerveux central que l'éthanol mais ses métabolites acides ont une toxicité importante (glycoaldé-

hyde, acide glycolique, acide glyoxalique). L'intoxication aiguë se traduit par des œdèmes cérébraux, secondaires à des dommages cytotoxiques ; l'atteinte rénale peut conduire à une insuffisance aiguë ; l'absorption massive peut entraîner un arrêt cardiaque ou un collapsus cardio-vasculaire.

Graisses, huiles

L'emploi important des matières grasses d'origine végétale et animale associé au développement considérable de l'utilisation industrielle des huiles et graisses d'origine minérale conduit, malgré les précautions prises, à des pollutions permanentes, généralement à des niveaux faibles, mais auxquelles viennent quelquefois s'ajouter des pollutions massives provenant de rejets accidentels. La plupart de ces produits sont insolubles dans l'eau mais ils peuvent exister sous forme émulsifiée ou saponifiée. La présence d'hydrocarbures peut donner un aspect irisé à l'eau ainsi qu'une saveur et une odeur particulières.

Des teneurs supérieures à 500 mg/L dans les eaux résiduaires (cf. § D-3.7, D-3.9 et D-3.10) sont susceptibles de provoquer une attaque du béton par les acides gras libres et peuvent gêner considérablement l'exploitation des stations de traitement. Les solvants organiques qui leur sont quelquefois associés (tétrachlorure de carbone, trichloréthylène, chloroforme) peuvent perturber l'épuration biologique et la digestion des boues. *Voir aussi* Hydrocarbures totaux et indice hydrocarbure (cf. § A-10.18).

Haloformes, halométhanes

Voir Organo chlorés volatils.

Hydrazine

L'hydrazine est un réducteur puissant et largement utilisé dans l'industrie chimique (matières colorantes, insecticides, produits pharmaceutiques, plastiques, etc.) ; elle est employée comme carburant liquide pour fusée. L'hydrazine est aussi utilisée pour prévenir la corrosion dans les eaux des chaudières à production de vapeur en éliminant l'oxygène dissous. La réaction conduit à la formation d'azote mais dans certaines conditions, au-dessus de 100 °C, l'excès d'hydrazine se décompose en donnant de l'ammoniaque. Par rapport aux traitements au sulfite de sodium associé à des catalyseurs (cuivre, cobalt, nickel, etc.), l'hydrazine a l'avantage de ne pas introduire de sels. Les doses utilisées varient de 0,5 à 1 mg/L ; toutefois, pour des cas particuliers, la concentration peut atteindre 200 mg/L. Dans le cas des aciers courants, l'hydrazine provoque la formation d'une couche de magnétite (Fe_3O_4) ayant une protection plus importante que l'oxyde de fer (Fe_2O_3). Par voie pulmonaire, l'hydrazine est susceptible d'être carcinogène. Cependant, à l'air, elle est rapidement oxydée en azote. Les intoxi-

cations se caractérisent par des lésions hépatiques et rénales et des troubles cardiaques. Les différentes réglementations relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine ne font pas état de valeur limite. Pour le contrôle des rejets, il conviendra de s'assurer que la décomposition de l'hydrazine est totale.

Hydrocarbures

L'énorme consommation des dérivés pétroliers fait que des quantités considérables sont véhiculées généralement par l'intermédiaire de citernes ou d'oléoducs. Par ailleurs, les stockages de produits bruts ou finis sont de plus en plus massifs et voient leurs possibilités accrues par l'utilisation de cavités souterraines. Il est bien évident que les pertes lors des transferts et les fuites de réservoirs peuvent conduire à la dispersion en surface ou dans le sol de quantités relativement importantes. Certes, certains de ces hydrocarbures sont assez volatils et se dispersent facilement, mais ceux dont le point d'ébullition est plus élevé sont stables et peuvent ensuite contaminer les eaux sur une grande distance. Toutefois, les pertes au cours des opérations de transport ne dépassent pas, jusqu'ici, 0,001 % des quantités transportées.

Les hydrocarbures rencontrés dans les eaux (cf. § A-10.18 et D-3.9) peuvent aussi provenir d'autres sources : effluents des usines à gaz, de l'industrie pétrolière, de la pétrochimie, des ateliers de mécanique, fumées de cheminées, bitume des routes…

Seuils d'odeur de différents produits pétroliers (mg/L)

Pétrole brut	0,1-0,5
Pétrole raffiné	1-2
Kérosène désodorisé	0,082
Essence commerciale	0,005
Essence (avec additifs)	0,00005
Mazout	0,22 à 0,5
Fuel	0,3 à 0,6
Lubrifiants	0,5 à 25
Huile à moteur	1

De plus, certains hydrocarbures polycycliques pourraient avoir une origine naturelle : sols des forêts à sapins rouges et hêtres autour des lacs, phytoplancton, suintements sous-marins (eau de mer).

En général, les dérivés du pétrole n'ont pas une toxicité élevée. Il faut une absorption de plusieurs dizaines de millilitres pour déclencher des irritations digestives, des troubles neurologiques par affinité pour les lipides, une atteinte rénale. Par contre, les additifs sont beaucoup plus toxiques. L'inconvénient principal qui est de développer des odeurs et des saveurs

désagréables permet de détecter rapidement les pollutions. Dans le cas de contamination de réservoirs ou de circuits, les modifications organoleptiques de l'eau peuvent persister longtemps après la pollution. Comme la plupart de ces produits sont faiblement oxydables et encore perceptibles à des dilutions de 1 partie par milliard, les nappes d'eau polluées souterraines pourront être inutilisables pendant de très longues années.

Dans certains cas, peut être décelée une odeur de moisi qui pourrait être liée à la dégradation biochimique des hydrocarbures. Les films huileux et quelquefois colorés, en diminuant la capacité de réoxygénation de l'eau et en enrobant les floculats, gênent les opérations de coagulation et de filtration dans les stations d'épuration. Bien que l'on ne possède pas de résultats d'analyse systématique, on peut noter que les eaux du Rhône ont présenté une concentration moyenne de 0,1 mg/L. Aux Pays-Bas, certaines eaux souterraines contaminées ont montré des teneurs allant de 0,5 à 76 mg/L. Une enquête du ministère de la Santé réalisée en France à l'époque de l'ancienne réglementation (avant 2001) qui imposait 10 µg/L comme teneur maximale (après extraction au CCl_4 a montré que 0,2 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuaient une eau dont la teneur moyenne en hydrocarbures dissous était supérieure ou égale à 10 µg/L.

Les traitements par le charbon actif ont des rendements d'élimination importants.

Dans l'eau de mer, ces produits ont une biodégradabilité non négligeable de l'ordre de 1 mg/L par jour. Le pétrole brut serait moins toxique que le pétrole raffiné, cependant la pollution affecte toute la chaîne alimentaire indépendamment du fait que le goût développé dans les produits de la pêche les rend impropres à la consommation. La lutte contre la pollution marine (naufrages, fuites, vidanges) utilise surtout des moyens physiques (barrages flottants, pompages) ou physico-chimiques (absorbants solides, émulsifiants, détergents non ioniques, etc.). Cependant, l'entraînement dans les fonds d'hydrocarbures piégés peut développer des altérations dans la faune benthique ; de même la dispersion peut aggraver les conséquences sur la vie marine. Du point de vue industriel, il a été noté que les hydrocarbures étaient susceptibles d'entraîner une corrosion des circuits de vapeur.

Hydrocarbures benzéniques (benzène, toluène, xylène, éthylbenzène)

Le benzène est le plus simple des hydrocarbures aromatiques. Obtenu par distillation de la houille et du pétrole, il est un excellent solvant, largement utilisé dans l'industrie chimique de synthèse. Étant donné sa toxicité, son usage industriel est sévèrement réglementé. L'industrie utilise des solvants de remplacement complexes et incomplètement raffinés pouvant contenir des quantités plus ou moins faibles de benzène (toluène, xylène, cumène, etc.). La présence d'hydrocarbures benzéniques a été signalée dans les eaux souterraines à des niveaux pouvant atteindre quelques dizaines de microgrammes par litre (cf. § A-10.8 et A-10.15). Étant donné la volatilité de ces

produits, leur teneur dans les eaux de surface ne dépasse généralement pas 10 µg/L.

Le benzolisme est une maladie professionnelle grave caractérisée en particulier par une anémie progressive du type hypoplasique ou aplasique et des leucoses. Cette affection a été très largement étudiée dans de nombreux pays. Son caractère insidieux, son évolution progressive accompagnée de troubles peu spécifiques font qu'un dépistage précoce et un diagnostic sont très complexes. Bien que la voie pulmonaire soit la voie d'entrée majeure du benzène dans l'organisme, l'OMS a considéré qu'en raison de l'hématotoxicité de cet élément, il convenait de limiter les risques éventuels. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, un niveau guide de 10 µg/L a été choisi. C'est pourquoi les directives européennes et la réglementation française ont intégré le paramètre benzène dans les limites de qualité avec une valeur de 1 µg/L.

L'OMS recommande également une valeur guide de 700 µg/L pour le toluène, de 500 µg/L pour le xylène et de 300 µg/L pour l'éthylbenzène. Elle précise que les seuils d'odeur et de goût se situent entre 24 et 170 µg/L pour le toluène, entre 20 et 1 800 µg/L pour le xylène et entre 2,4 et 200 µg/L pour l'éthylbenzène. Le traitement sur charbon actif se révèle efficace pour l'élimination de ces composés.

Hydrocarbures chlorés aliphatiques

Les hydrocarbures chlorés aliphatiques (cf. § A-10.17), plus couramment connus sous l'appellation « solvants chlorés », n'existent pas naturellement. Ils sont le résultat d'une production industrielle très importante et la variété des produits obtenus est fonction des différents usages recherchés. Très largement utilisés comme solvants aussi bien pour le nettoyage que pour l'extraction et la séparation de certains produits, ils sont également employés comme réfrigérants (chlorofluorocarbone, CFC). Du fait de leur large domaine d'utilisation, on peut les retrouver dans les effluents industriels et dans les eaux usées urbaines, leur emploi domestique étant aussi très répandu.

D'une façon générale, leur présence dans les eaux de surface est limitée car étant donné leur volatilité, ils se dispersent dans l'atmosphère en fonction du temps et de la température ambiante ; par voie de conséquence, ils peuvent se retrouver dans les retombées atmosphériques (eaux de pluie). On les retrouve plus facilement dans les eaux de nappe après percolation dans le sol. Peu dégradables, ils ont tendance à se déposer dans la partie basse des nappes et ainsi à entretenir une contamination qui est alors fonction de leur solubilité. L'élimination de ces composés constitue un point délicat des traitements des eaux. Si la floculation est sans action, par contre, les passages sur charbon sont susceptibles de fixer ces produits mais la saturation est très rapide. Une aération par barbotage bien conduite peut en éliminer jusqu'à 95 %. Pour les usages domestiques, cette même efficacité est obtenue avec une ébullition de 5 min. La prévention des pollutions réside principalement dans la récupération des solvants au point d'utilisation. Leur présence dans les décharges de tous types constitue un risque de pollution des nappes phréatiques car ils ne sont pas retenus par

les argiles. Dans l'eau, le seuil organoleptique se situe pour le trichloréthylène et le tétrachloréthylène à 500 µg/L et pour le tétrachlorure de carbone à 30 µg/L.

La toxicité de ces produits varie en fonction de leurs caractéristiques chimiques propres, de leur instabilité sous l'action de la lumière, des métaux en contact et aussi des impuretés résiduelles de la production industrielle. Les intoxications qui ont été relevées sont généralement le résultat d'inhalations, la voie digestive ne joue qu'en fonction d'erreurs accidentelles. La fixation dans l'organisme est fonction de la liposolubilité du produit qui est à l'origine de leur affinité pour le système nerveux pour lequel ils jouent le rôle de dépresseurs. Le métabolisme de ces composés peut donner des dérivés intermédiaires très réactifs ; dichlorocarbène pour le tétrachlorure de carbone, dérivés époxydés pour le trichloréthylène et le tétrachloréthylène. Ces produits de transformation sont à l'origine de la toxicité aiguë et chronique des hydrocarbures chlorés (alkylation responsable de la cancérogénèse). Le foie constitue l'organe cible car c'est là que se forment principalement les métabolites potentiellement toxiques. En résumé, l'action de ces produits peut se caractériser par des atteintes neurologiques, hépatiques, cardiovasculaires et rénales. L'expérimentation sur l'animal a montré que certains de ces composés pouvaient avoir une activité carcinogénétique.

Voir aussi Organo chlorés volatils, Chlorure de vinyle.

Dichlorométhane (chlorure de méthylène) CH_2Cl_2

Le dichlorométhane est très largement utilisé comme solvant pour les opérations de dégraissage et de décapage et pour l'extraction de certains produits (caféine…). Par ailleurs, il entre dans la synthèse d'insecticides, d'herbicides, etc. Il est aussi employé comme propulseur d'aérosols et comme liquide de réfrigération.

L'intoxication se traduit par une atteinte du système nerveux central sans atteinte hépatique, rénale ou myocardique. Il convient de noter que si la très grande majorité du solvant inhalé est rejetée dans l'air expiré, une très faible partie (2 %) est transformée en oxyde de carbone. Cette formation qui ne soulève pas de problème particulier chez l'individu sain, peut être dangereuse pour le sujet coronarien ou fumeur.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 20 µg/L.

Dichloropropane

1,2-Dichloropropane

Le 1,2-dichloropropane (dichlorure de propylène) est utilisé dans les opérations de dégraissage des métaux, dans le nettoyage à sec, comme fumigant pour le traitement des sols et pour l'élimination du plomb présent dans l'essence. Du fait de sa solubilité, il peut facilement contaminer les eaux. Peu toxique, il est cependant considéré comme carcénogène. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 µg/L.

1,3-Dichloropropane

Le 1,3-dichloropropane, utilisé dans de nombreuses industries, peut aussi exister comme contaminant dans les fumigants employés pour le traitement

des sols, contenant du 1,3-dichloropropylène. Il a rarement été détecté dans l'eau et il est faiblement toxique. L'OMS n'indique aucune valeur guide pour l'eau de boisson.

Tétrachlorure de carbone (tétrachlorométhane) CCl_4

Le tétrachlorure de carbone est surtout utilisé pour la fabrication de dichlorodifluorométhane et de trichlorofluorométhane et des polymères type PTFE. Son emploi comme fumigant des céréales a pratiquement disparu en raison de sa toxicité et du fait que des résidus pouvaient se trouver dans les céréales utilisées dans l'alimentation humaine et animale.

La toxicité du tétrachlorure de carbone se traduit par une atteinte hépatique et rénale. C'est un métabolite, le dichlorocarbène qui, par l'intermédiaire d'une peroxydation lipidique, est responsable de la nécrose cellulaire. Une symptomatologie digestive précède l'atteinte hépatocellulaire qui peut évoluer vers une encéphalopathie hépatique. Les études expérimentales chez l'animal ont montré que ce produit avait une action carcinogène. Il a été aussi noté des hépatomes chez l'homme, survenus après une intoxication.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 2 µg/L.

Dichloroéthane

1,2-dichloroéthane (dichlorure d'éthylène) $CH_2Cl – CH_2Cl$

Ce produit est très utilisé comme fumigant pour les céréales, comme solvant des matières plastiques et comme additif à l'essence.

L'intoxication se traduit par des troubles du système nerveux central, une nécrose hépatocellulaire et une atteinte rénale aiguë. Les expérimentations animales ont montré que ce produit avait une action carcinogène et mutagène.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 30 µg/L tenant compte d'un accroissement d'un risque de cancer pour 10^5 individus.

Les directives européennes et la réglementation française ont intégré récemment ce paramètre dans les limites de qualité avec une valeur de 3 µg/L.

1,1-dichloroéthane (dichlorure d'éthylidène) $CCL_2H– CH_3$

Relativement peu utilisé, ce produit serait nettement moins toxique que son isomère. Cependant, à fortes doses, il a une action dépressive sur le système nerveux central.

Compte tenu des connaissance limitées en matière de toxicité, l'OMS ne recommande pas de valeur guide pour l'eau destinée à la consommation humaine.

Trichloroéthane

1,1,1-trichloroéthane (méthylchloroforme, …) $CCl_3 – CH_3$

Du fait de sa moindre toxicité, le 1,1,1-trichloroéthane est susceptible de remplacer le trichloréthylène dans beaucoup de ses utilisations, en particulier pour le dégraissage. Il est aussi employé comme propulseur d'aérosols.

D'une façon générale, il s'agit d'un produit stable qui, en présence d'eau, peut s'hydrolyser en donnant de l'acide acétique et de l'acide chlorhydrique. Pour le stabiliser, on peut ajouter de l'alcool.

En ce qui concerne les problèmes de toxicité, les additifs doivent être pris en compte. Une faible partie du produit inhalé est métabolisée en trichloroéthanol et en acide trichloracétique qui sont éliminés dans les urines sous forme glucuro-conjuguée. Il ne semble pas que l'intoxication chronique ou aiguë conduise à des lésions hépatiques et rénales.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide provisoire de 2 mg/L.

1,1,2-trichloroéthane (trichlorure de vinyle…) $CHCl_2 – CH_2Cl$

Ce produit fait partie des solvants chlorés les plus toxiques, en particulier pour la cellule hépatique ; son emploi industriel est très limité.

Dibromure d'éthylène (1,2-dibromométhane)

Le dibromure d'éthylène était utilisé comme additif dans l'essence au plomb, dans l'industrie chimique et comme fulmigant insecticide. Tout en étant photodégradé dans l'atmosphère, il est résistant à la dégradation dans le sol et est soluble dans l'eau. Il est considéré comme cancérogène génotoxique. Les données actuelles sont insuffisantes pour fixer une valeur guide.

Dichloroéthylène

1,2-dichloroéthylène (dichlorure d'acétylène) $CHCl = CHCl$

Le 1,2-dichloroéthylène est constitué par un mélange de deux isomères dont 82 % de dérivé « cis ». Il est employé comme solvant d'extraction et pour des synthèses chimiques. Sa toxicité se caractérise par une dépression du système nerveux central ; elle est du même ordre de grandeur que la toxicité du trichloréthylène.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 50 µg/L.

1,1-dichloroéthylène (chlorure de vinylidène) $CH_2 = CCL_2$

Ce produit est surtout utilisé comme réactif pour la synthèse de polymères variés (emballages).

Sa toxicité sur le système nerveux central est très marquée ; il en est de même pour la cellule hépatique, probablement sous l'action d'un métabolite époxydé. L'expérimentation animale a montré que ce produit avait une action carcinogène et mutagène.

L'OMS recommande une valeur guide de 30 µg/L.

Trichloroéthylène (trichlorure d'acétylène…) $CHCl = CCl_2$

Le trichloroéthylène est très largement utilisé comme solvant des graisses dans l'industrie ou le dégraissage à sec et comme agent d'extraction. Il est aussi employé dans l'industrie des résines, des peintures et des pesticides.

Ce produit est relativement bien métabolisé dans l'organisme (90 %) ; il est éliminé sous forme de trichloroéthanol et d'acide trichloroacétique. De tous

les solvants chlorés, c'est probablement celui qui a donné lieu au plus grand nombre d'intoxications. L'intoxication aiguë se caractérise par un coma avec des troubles du rythme cardiaque. En ce qui concerne l'intoxication chronique, le trichloroéthylène a été mis en cause pour des atteintes neurologiques chroniques, des complications cardio-vasculaires. L'expérimentation animale a mis en évidence l'incidence de cancers hépatocellulaires chez la souris mais cette action carcinogène s'est révélée négative sur d'autres espèces animales. L'OMS recommande une valeur guide provisoire de 70 µg/L.

Les directives européennes et la réglementation française ont intégré ce paramètre récemment dans les limites de qualité avec le tétrachloroéthylène. La somme des deux solvants chlorés doit être inférieure à 10 µg/L.

Tétrachloroéthylène (perchloréthylène) $CCl_2 = CCl_2$

Comme les autres solvants chlorés, le tétrachloroéthylène est très largement employé dans l'industrie pour le dégraissage des métaux, le nettoyage à sec, la dissolution des peintures, etc.

Une faible partie du tétrachloroéthylène est métabolisée dans l'organisme et l'élimination se fait très lentement sous forme d'acide trichloroacétique. L'intoxication aiguë se traduit par une dépression du système nerveux central et une hépatite cytolytique modérée. Bien que l'action cancérigène ait pu être mise en évidence chez la souris par la formation de cancers du foie, l'expérimentation conduite dans les mêmes conditions chez le rat n'a pas été concluante. Les études épidémiologiques chez des sujets exposés n'ont pas fait apparaître une augmentation de la mortalité par cancer.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 40 µg/L. Ce paramètre fait partie des limites de qualité de la réglementation française sur les eaux destinées à la consommation humaine (cf. Trichloroéthylène).

Hydrocarbures polycycliques aromatiques

Les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HPA) (cf.§ A-10.16) comportent plusieurs noyaux benzéniques accolés ou soudés, l'entité chimique de base étant le noyau benzénique hexagonal. Ces produits sont très répandus et proviennent en grande partie, mais non exclusivement, de la pyrolyse des hydrocarbures ou de leur combustion (moteurs, chauffage, etc.). On les rencontre dans le charbon, le pétrole et les dérivés pétroliers ainsi que dans les schistes. Le plus anciennement identifié est le benzo-*a*-pyrène soluble dans l'eau à 4 µg/L (à 27 °C), très oxydable et photosensible dans l'environnement. Les HPA se retrouvent dans les eaux usées industrielles, notamment de l'industrie pétrolière.

Les concentrations retrouvées dans les eaux de surface peu polluées varient de quelques dizaines à quelques centaines de nanogrammes par litre. Les eaux polluées peuvent atteindre des chiffres beaucoup plus élevés. Sauf pollution, les eaux souterraines n'en contiennent que quelques dizaines de

nanogrammes par litre. Pour l'interprétation des résultats, il faudra tenir compte des erreurs liées à l'introduction occasionnelle de ces produits, notamment du fluoranthène à partir des canalisations à revêtements bitumineux. Il a été estimé que l'apport hydrique et atmosphérique ne représentait qu'environ 1 % de l'apport quotidien total en hydrocarbures polycycliques aromatiques, le reste (99 %) étant apporté par la nourriture et le tabac.

Les hydrocarbures polycycliques aromatiques sont connus pour être cancérogènes. Comme il n'était pas possible de les identifier dans leur totalité, il a été proposé de limiter d'abord l'analyse à six d'entre eux. En 2008, au moins 16 d'entre eux peuvent être analysés. Bien qu'il soit classé parmi les produits cancérogènes, il n'est pas évident que le benzo (a) pyrène seul soit à l'origine d'une action toxique, tératogène, mutagène ou carcinogène chez l'homme. Cependant, l'expérimentation animale a fait apparaître des tumeurs du tractus gastro-intestinal et de la peau en particulier.

Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent comme teneur en hydrocarbures polycycliques aromatiques une valeur limite globale de 0,1 μg/L. Elles précisent les substances de référence suivantes : benzo (b) fluoranthène ; benzo (k) fluoranthène ; benzo (ghi) pérylène ; indéno 1,2,3-(cd) pyrène. De plus, ces réglementations fixent pour le benzo-3,4-pyrène une valeur limite de 0,01 μg/L.

Des teneurs de l'ordre de 0,1 μg/L dans l'eau de distribution doivent inciter à des vérifications des installations de traitement et les eaux contenant plus de 0,1 μg/L doivent être considérées comme suspectes. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 0,7 μg/L pour le benzo (a) pyrène qui correspond à un risque additionnel de 1 cancer pour 10^5 individus.

Ces produits sont souvent associés aux matières en suspension ; ils sont relativement bien éliminés par les traitements d'épuration (floculation, filtration, charbon actif, oxydation par le chlore et l'ozone). Pour éviter une contamination il convient de proscrire l'emploi de revêtements à base de goudron de houille ou de matériaux analogues tant pour les réservoirs que pour les canalisations. Des vérifications périodiques sont à développer en cas de contamination avec identification des substances en cause, le potentiel carcénogène étant variable suivant les composés.

Certains auteurs insistent sur le rôle des détergents, qui augmenteraient de façon appréciable l'action toxique de ces produits. Cependant, il n'a pas été mis en évidence que les quantités de surfactifs habituellement rencontrées dans les eaux étaient suffisantes pour conduire à un enrichissement en benzo (a) pyrène.

Hydrogène sulfuré

Voir Sulfures.

Hydrotimétrie (degré hydrotimétrique)

Traditionnellement, les résultats de la dureté s'expriment en degré hydrométrique français : 1 ° français (f) correspond à 10 mg/L de carbonate de calcium ou à 4 mg/L de calcium.

Le titre hydrotimétrique total exprime (approximativement) la teneur de l'eau en sels de calcium et de magnésium. Ces éléments précipitent avec le savon qui perd ainsi son pouvoir détersif et ne mousse plus que difficilement. En ce qui concerne la toilette, dans le cas des eaux douces et après rinçage, la peau reste lisse et souple, tandis qu'avec les eaux dures elle se couvre de savon calcaire et magnésien insoluble et devient rêche. À titre indicatif, une eau dure entraîne une consommation supplémentaire de savon de 100 g par degré hydrotimétrique et par mètre cube. Toutefois, l'emploi très répandu de détergents synthétiques, dont l'action n'est pas liée à la dureté de l'eau et qui contiennent généralement un « séquestrant » du calcium, estompe ces inconvénients. Il faut retenir aussi que les sels de calcium et de magnésium s'opposent à la cuisson convenable des légumes (pectates insolubles). S'il a pu être considéré, sans que cela ait un caractère absolu, que la formation d'une couche carbonatée pouvait éviter la corrosion, une dureté élevée entraîne dans les circuits d'eau chaude et de vapeur la formation de dépôts particulièrement gênants.

L'adoucissement par résines échangeuses d'ions constitue dans l'industrie une bonne technique pour réduire la formation de dépôts, toutefois, la tendance actuelle à développer extensivement cette méthode pour l'eau potable est beaucoup moins satisfaisante si elle n'est pas menée convenablement. Cette opération peut être à l'origine d'un certain nombre d'inconvénients : corrosion de canalisations métalliques liée à la rupture de l'équilibre calco-carbonique avec introduction de métaux lourds (plomb), développement bactérien sur les résines filtrant les débris microscopiques, modification de la saveur de l'eau qui devient fade, augmentation de la teneur en sodium par la régénération. L'élimination d'1 °f hydrotimétrique entraîner la présence de 4,6 mg de sodium par litre. L'emploi de polyphosphates en particulier pour les circuits dans lesquels la température ne dépasse pas 80 °C réduit économiquement le problème de l'entartrage. Il est aussi recommandé d'abaisser la température des chauffe-eau au strict minimum compatible avec l'emploi de l'eau.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS ne recommande pas de valeur mais indique qu'une dureté élevée peut provoquer la formation de dépôts tandis qu'une faible dureté peut engendre des problèmes de corrosion. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquant que pour les eaux destinées à la consommation humaine et ayant subi un traitement d'adoucissement, la dureté totale devait être supérieure à 15 °f (60 mg de Ca/L), et l'alcalinité à 30 mg/L d'ion HCO_3, le *p*H et l'oxygène dissous devaient être tels que pour ces trois derniers paramètres, l'eau ne soit pas agressive. L'ancienne réglementation française précisait que les eaux adoucies ou déminéralisées livrées à la consommation humaine devaient satisfaire aux exigences suivantes : la dureté totale ne devait pas être inférieure à 15 °f, l'alcalinité ne doit pas être inférieure à 2,5 °f.

Les réglementations actuelles (2008) ne préconisent pas de normes pour cet aspect.

Afin de limiter le développement des traitements d'adoucissement domestiques qui peuvent entraîner des conséquences d'ordre sanitaire dans le cas d'un entretien déficient, une valeur limite de 50 °f peut être préconisée.

Voir aussi Alcalinité, Calcium, Dureté totale, Magnésium, *TA-TAC.*

Indium

Indium stable (cf. § A-7.30)

Découvert par Reich et Richter, l'indium est un métal argenté très mou. Deux isotopes existent à l'état naturel (^{113} In stable, 4,16 % et ^{115} In radioactif primaire, 95,84 %).

L'indium se trouve associé comme impureté à un certain nombre de minerais (cuivre, zinc, plomb, étain, etc.). La croûte terrestre en contient environ 0,1 ppm. Sa résistance contre la corrosion le fait utiliser dans des alliages particuliers, notamment les alliages dentaires ainsi que dans les soudures. Il est aussi employé dans l'industrie électronique.

Sa faible absorption par voie digestive limite sa toxicité.

Indium radioactif

Parmi les différents isotopes radioactifs de l'indium, les plus importants sont l'indium 115, élément radioactif naturel (période $6 . 10^{14}$ ans), l'indium 115m (période 4,49 heures), l'indium 111 (période 2,8 jours) et l'indium 113m (période 1,6 heures). Ces deux derniers éléments sont de radiotoxicité modérée à faible. L'exposition des individus se fait essentiellement par les voies autres que digestive. L'élimination se fait par voie urinaire et fécale. Le décret du 18 avril 1988 modifiant le décret du 20 juin 1966 précise que la limite annuelle d'incorporation par ingestion pour les personnes du public est :

– de $2 . 10^{7}$ Bq ($5,4 . 10^{-4}$ Ci) pour l'^{111} In
– de $2 . 10^{8}$ Bq ($5,4 . 10^{-3}$ Ci) pour l'^{113m} In
– de $1 . 10^{5}$ Bq ($2,7 . 10^{-6}$ Ci) pour l'^{115} In
– de $5 . 10^{7}$ Bq ($1,4 . 10^{-3}$ Ci) pour l'^{115m} In.

Pour les travailleurs, les limites annuelles d'incorporation par ingestion et par inhalation (LAI en becquerels) et les limites dérivées de concentration des isotopes radioactifs de l'indium dans l'air pour l'exposition professionnelle (LDCA en becquerels par mètre cube) sont données dans l'annexe 4 du décret n° 86-1103 du 02/10/86 relatif à la protection des travailleurs contre les dangers des rayonnements ionisants. Les valeurs relatives à l'indium 111 sont données en page suivante.

En cas d'utilisation en hydrologie de l'^{113m} In, il convient de se souvenir que, pour arrêter complètement les électrons de 391 keV, il faut 0,52 mm de verre ou 0,9 mm de plexiglas ; pour atténuer d'un facteur 10 les photons de l'^{113m} In, il faut 0,9 cm de plomb. En cas d'utilisation de l'^{115m} In, pour arrêter complètement les électrons de 308 à 336 keV, il faut 1,4 mm de verre ou

2,5 mm de plexiglas ; pour atténuer d'un facteur 10 les photons de l'^{115m} In, il faut 0,7 cm de plomb ou 4,5 cm d'acier.

Radionucléide		Ingestion	Inhalation	
		(a)	(b)	(c)
111 In	LAI	2x108	2x108	2x108
–	LCDA	–	1x105	1x105

(a) Tous les composés de l'indium
(b) Tous les composés de l'indium, sauf ceux qui sont indiqués dans la note (c).
(c) Oxydes, hydroxydes, halogénures et nitrates.

Iode

Le mot iode vient du grec *iôdês* signifiant violet.

Iode stable

L'iode contenu dans les structures géologiques se présente dans la nature à l'état d'iodure (cf. § A-7.31) et d'iodate. Il se retrouve à côté du chlore et du brome dans l'eau de mer (0,05 mg %), les eaux saumâtres et aussi dans la croûte terrestre. Les sols pauvres en iode se rencontrent dans les régions montagneuses recouvertes pendant longtemps par les glaciers de l'ère quaternaire dont la fonte a entraîné l'iode au sol sous-jacent (Andes, Himalaya). Les sols riches en humus le retiennent plus facilement. Le transport par les vents est significatif il a été calculé que les pluies apportent par an et par hectare de sol environ 50 g d'iode dans les zones maritimes et environ 9 g dans les zones continentales ; c'est le cas en particulier pour le centre de l'Afrique. L'iode se retrouve à l'état de traces dans la plupart des eaux, y compris les eaux minérales ; les eaux souterraines peuvent en contenir jusqu'à plusieurs dizaines de µg/L. Une étude (1995) sur les eaux destinées à la consommation humaine du sud de la France fait apparaître des valeurs en iode comprises entre 0,5 et 15 µg/L avec une valeur moyenne de 2,9 µg/L. Au cours du traitement de l'eau, de l'iode à l'état de trace peut se former par oxydation des iodures.

Sur les côtes, cet élément peut être un indicateur d'infiltration d'eau de mer. Le sel de mer récolté sur la côte méditerranéenne a des teneurs très faibles en iode, généralement inférieures à 0,5 mg/kg ; cette quantité n'est significativement pas plus importante que celle contenue dans les sels d'autres origines (sels gemmes, sels raffinés obtenus par évaporation artificielle de saumures de sondage).

L'iode est utilisé dans l'industrie chimique, en photographie, et entre dans la fabrication des produits de contraste iodés en radiographie ; il est aussi employé en thérapeutique sous forme native (soluté de lugol…), sous forme d'hormones thyroïdiennes, ou sous forme déguisée dans les médicaments (amiodarone, direxiode, benzodiarone, etc.). C'est un irritant cuta-

néo-muqueux et très rares sont les intoxications par voie digestive ; il est contre-indiqué dans les allergies et certaines dermatites. Chez les vertébrés, à côté des autres halogénés ingérés, il existe un phénomène de concentration actif de l'iode au niveau de la glande thyroïde, sous l'action d'une pompe à iodures, stimulée par l'hormone thyréostimulante (TSH). L'iode est ensuite fixé sur des résidus de tyrosine de la molécule de thyroglobuline pour donner des iodo-tyrosines qui se couplent et donnent naissance aux hormones thyroïdiennes : la thyroxine à quatre atomes d'iode (T4) et la triiodothyronine à trois atomes d'iode (T3). Ces hormones sont catabolisées principalement par désiodation périphérique, notamment hépatique et rénale. Elles interviennent dans le métabolisme de toutes les cellules de l'organisme, dans le développement des organes et en particulier du cerveau. Le développement cérébral s'effectuant durant la vie fœtale et jusqu'à la fin de la troisième année de la vie, le déficit en iode et/ou en hormones thyroïdiennes durant cette période critique de la vie se traduira par un retard mental irréversible.

L'iode est un oligo-élément présent à l'état de traces dans l'organisme humain (15 à 20 mg pour l'adulte). Les instances internationales recommandent un apport journalier en iode de 35 μg pour le nouveau-né, de 45 μg entre 6 et 12 mois, de 60 à 100 μg entre un et dix ans, de 100 à 115 μg à partir de l'âge de 11 ans, de 125 à 150 μg chez l'adulte et de 200 μg durant la grossesse et la lactation. En France, l'apport alimentaire journalier représente environ 100 μg. Un apport inférieur à 20 μg/jour se traduit par une carence sévère. Les matières protéiques d'origine animale contiennent trois fois plus d'iode que les légumes. Les aliments les plus riches en iode sont les œufs et surtout les produits d'origine marine (poissons, coquillages, crevettes, crabes, etc.) dont les teneurs peuvent atteindre plusieurs mg/kg. L'iode s'élimine en majeure partie par voie urinaire et accessoirement par voie fécale. À l'équilibre alimentaire, l'apport en iode est sensiblement égal à son excrétion. Le contrôle de la teneur en iode des urines de 24 h permet une bonne évaluation de l'apport alimentaire. L'iode est un élément essentiel pour la synthèse des hormones thyroïdiennes.

Les troubles de la déficience iodée se traduisent par des altérations de la fonction thyroïdienne et dans les cas sévères, par un goitre et un crétinisme endémiques (complication principale), une diminution de la fertilité et une augmentation de la mortalité périnatale et infantile. Le goitre endémique est l'aspect le plus spectaculaire de la carence iodée mais il ne représente que le sommet de l'iceberg des troubles de la déficience iodée (TDI). Il constitue une des maladies les plus fréquentes dans le monde (plusieurs centaines de millions de personnes en seraient atteintes) et sa fréquence est très variable d'une région à une autre. Une étude récente a montré qu'un pourcentage important de la population chinoise souffrait d'une déficience iodée. Aux deux pôles de la vie, les nouveau-nés, les jeunes enfants et les personnes âgées constituent des groupes à risque. La prévalence des affections thyroïdiennes au sein de la population est difficile à évaluer : les différentes études s'accordent sur la très nette prédominance féminine, en relation avec l'épidémiologie des maladies auto-immunes, ainsi que sur la persistance de foyers d'endémie goitreuse, y compris dans les pays où est pratiquée une iodation systématique du sel de table ; d'où l'hypothèse de facteurs distincts

de la déficience iodée dans l'étiologie du goitre car inversement, il n'existe pas obligatoirement un goitre endémique dans les régions sévèrement carencées en iode. Malgré cela, une enquête a évalué la fréquence des hypertrophies thyroïdiennes à 16,7 % avec une disparité significative suivant les régions. Il convient de préciser qu'il s'agit d'une notion épidémiologique et que les trois quarts de ces anomalies n'ont pas de réalité pathologique. L'iodurie qui est considérée comme reflétant l'apport iodé semble faible dans la majorité des régions (moins de 50 µg/g de créatinine), la limite de définition de la carence iodée mineure étant de 50 à 100 µg par g de créatinine.

Très anciennement, les produits de la mer étaient utilisés contre le goitre (Grèce et Chine antiques) et la médecine européenne du Moyen Âge utilisait des éponges calcinées. Cette préparation fut largement utilisée en Angleterre (XVIIIe siècle) sous le nom de « remède de Coventry ». La médecine populaire provençale recommandait de porter autour du cou un linge contenant de la cendre et du sel gemme. C'est Chatin (1850) qui après avoir entrepris une série de recherches sur la teneur en iode de l'air, de l'eau, du sol, des aliments aboutit à la conclusion que « la trop faible teneur en iode de l'eau de boisson dans certaines contrées paraît être la principale cause du goitre endémique ». À cette époque, son opinion ne fut pas admise mais depuis, les arguments se sont accumulés pour lui donner une certaine importance.

De nombreux auteurs pensent que la fréquence du goitre serait inversement proportionnelle à la richesse en iode des aliments et particulièrement de l'eau. Cependant, compte tenu des quantités retrouvées dans l'eau, l'importance de cette voie d'apport doit être relativisée. Les déplacements de population, l'évolution des habitudes alimentaires, en particulier la consommation d'aliments d'origine marine contribuent à la limitation de l'influence des situations locales. La carence iodée constituerait un facteur favorisant auquel s'ajouteraient d'autres facteurs goitrigènes d'origine alimentaire. L'expérience suisse de prophylaxie du goitre par vente de sel de cuisine iodé à 5 mg/kg apportant environ 50 µg d'iode supplémentaire par jour a apporté une amélioration très importante. Des dispositions similaires ont été prises en Allemagne, en Espagne et en Italie où on ajoute respectivement 15 à 25 mg/kg, 51 à 69 mg/kg et 24 à 42 mg/kg d'iode sous forme d'iodure de potassium, d'iodate de potassium ou d'iodate de sodium. En France, l'arrêté du 23 juin 1993 autorise les fabricants à proposer un sel à usage domestique iodé par addition d'iodure de sodium dans la proportion de 10 à 15 mg/kg (exprimés en iode). Dans le but de stabiliser la teneur en iode du sel iodé, le mélange de sel et d'iodure de sodium peut être additionné de thiosulfate de sodium, à la dose maximale de 35 mg/kg. Toutefois, dans la pratique, l'iodation n'est pas toujours homogène ; elle peut varier de 4 à 14 mg/kg sous l'influence de l'humidité, de la température, de l'oxydation, de la lumière et de la qualité de l'emballage. L'ajout de magnésie peut limiter ce phénomène.

Certains pays ont pratiqué l'addition de dérivés iodés à l'eau (États-Unis, Danemark, Islande, etc.). En Hollande, des quantités de 50 µg/L d'iode ont été ajoutées à l'eau de distribution en tenant compte d'une consommation individuelle de 1,5 l/j. En Sicile, l'iodation de l'eau a fait diminuer en 4 ans la fréquence des goitres de 55 à 6,1 % chez les enfants d'âge scolaire.

Néanmoins, ces ajouts n'ont pas toujours abouti à une complète éradication du goitre, ce qui évoque l'existence d'autres facteurs alimentaires. Par contre, certains essais américains d'addition de dérivés iodés à l'eau, avec des doses relativement élevées ont provoqué des accidents d'intolérance (iodisme) ou des réactions d'hyperthyroïdisme. La supplémentation en iode de l'eau peut s'effectuer par le passage sur un polymère silicone assurant en permanence dans l'eau une teneur en iode de l'ordre de 50 à 100 μg/L. L'eau diffuse par osmose dans la matrice silicone-iodure qui subit des gonflements jusqu'à rupture du réseau. La solution saline peut ensuite pénétrer dans le milieu microporeux créé *in situ*. L'ajout d'iode à l'eau a été aussi étudié par l'emploi de tétraglycine hydropériodate qui par comprimé, apporte 8 mg d'iode libre.

D'autres facteurs tels que les facteurs génétiques mais aussi des facteurs liés à l'environnement pourraient intervenir dans la goitrogénèse. Dans certains pays d'Afrique, il a été mis en évidence que la consommation de farine de manioc et de millet aurait des effets goitrigènes du fait de la production endogène de cyanure, à partir de glucosides cyanogénétiques ; celui-ci est ensuite détoxifié dans l'organisme en thiocyanate (SCN^-). Pour le millet, à l'action anti-thyroïdienne des thiocyanates vient s'ajouter à celle des c-glycosylflavones. La consommation d'amandes, d'haricots de Lima, de pousses de bambou… conduirait aux mêmes effets. Les sujets absorbant des thiocyanates préformés que l'on trouve dans les thioglucosides de type goitrine de la famille des crucifères (chou, chou-fleur, moutarde noire, raifort, navet, radis, colza, cresson des fontaines…) seraient également soumis à une action goitrigène ; le vecteur pouvant être constitué par du lait de vache prélevé sur des animaux nourris sur des pâtures riches en crucifères. En fait, les thiocyanates, comme d'autres ions polyatomiques (perchlorates, nitrates) ont la propriété d'inhiber la captation de l'iode par la glande thyroïde. Les thiocyanates augmentent le taux d'iodure plasmatique mais aussi la clairance rénale de l'iodure. Quand aux flavonoïdes, ils inhibent la péroxydase thyroïdienne et interfèrent également avec les hormones thyroïdiennes. Chez les sujets carencés en iode, l'absorption d'un excès de sélénium pourrait aggraver cette situation car la fonction thyroïdienne ne peut s'adapter au métabolisme accru de la T4 créé par cet apport.

Un excès d'iode alimentaire de plusieurs milligrammes par jour peut être à l'origine d'effets pathologiques tels qu'un goitre par excès d'iode. Au Japon, dans une zone d'endémie goitreuse, il a été mis en évidence que les pêcheurs consommaient beaucoup d'algues ; la question peut donc se poser de l'action des composés extraits des algues, en particulier des alginates, de plus en plus utilisés dans l'alimentation. L'élevage d'animaux avec des aliments industriels supplémentés en iode (plusieurs milligrammes par kilogramme) pourrait poser des problèmes chez l'animal et éventuellement chez le consommateur. Parmi les facteurs additionnels semblant provoquer une demande plus grande en iode de la part de l'organisme, on peut citer : l'arsenic, le fluor, le calcium. À propos de ce dernier élément, il a été noté qu'une teneur en iode, qui dans une eau douce est suffisante pour prévenir le goitre, peut être insuffisante si l'eau est dure. En outre, il aurait été mis en évidence épidémiologiquement et expérimentalement que l'eau provenant de zones schisteuses ou carbonifères pourrait être responsable d'une endémie goitreuse.

L'iode peut être utilisé pour la décontamination microbienne de l'eau sur le terrain sous forme minérale ou organique (tétraglycine hydropériodate).

Iode radioactif

L'iode possède 25 isotopes qui sont tous radioactifs à l'exception de l'iode 127. 13 de ces isotopes sont des produits de fission. L'iode 131 de période 8,04 jours, les iodes de période plus courte (iode 132 de période 2 heures, iode 133 de période 21 heures, iode 134 de période 52 mn, iode 135 de période 6 heures) et l'iode 129 (de période 1,57 x 107 ans) sont potentiellement rejetés dans l'environnement dans le cas d'un accident nucléaire ou d'un relâchement accidentel. L'iode 125 (de période 59,9 jours) est un produit d'activation (a).

Les isotopes radioactifs de l'iode peuvent se substituer à l'isotope stable par échange dans l'environnement et les organismes vivants. Les 9/10e de l'iode présent dans le corps humain se trouvent dans la thyroïde (b, c). « L'homme de référence » (homme adulte, 70 kg, 1,70 m, femme adulte, 58 kg, 1,60 m) contient 11 mg d'iode dans son corps dont 10 mg dans la thyroïde, principal organe de rétention (Données issues de la CIPR 23, 1975). Une manière efficace de prévenir la fixation d'iode radioactif dans la thyroïde consiste à administrer de l'iode stable, sous forme de comprimés de 130 mg d'iodure de potassium, afin de saturer la thyroïde et de freiner le cycle de l'iode (b).

Les nourrissons et les enfants, du fait de leur alimentation ainsi que de la taille de leur thyroïde et de leur métabolisme, reçoivent généralement des doses plus élevées que les adultes (d). Lors de l'accident majeur de réacteur à Tchernobyl (Ukraine) le 26 avril 1986, plus de 15000 enfants de Biélorussie, Ukraine et Fédération de Russie ont reçu des doses de 1 Gy à la thyroïde (b). Plus d'un millier de cas de cancer de la thyroïde (environ 1 800) ont été signalés chez les enfants (d).

En cas de contamination interne, la dose équivalente engagée dépend de la quantité d'iode radioactif dans la thyroïde, de la période de l'isotope, de la période biologique de l'iode dans la thyroïde, de la durée de l'exposition. La période biologique augmente avec l'âge.

Les facteurs de dose équivalente à la thyroïde (Sv.Bq-1) par ingestion ou inhalation d'iode 129 et d'iode 131 sont donnés dans la référence (a). Ils dépendent de l'âge au moment de l'incorporation. A titre d'exemple, les facteurs sont donnés dans le cas de l'iode 131 et de l'ingestion (a, e).

Âge incorporation	3 mois	1 an	5 ans	10 ans	15 ans	Adulte
Sv.Bq-1	$1,8 \times 10^{-7}$	$1,8 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-7}$	$5,2 \times 10^{-8}$	$3,4 \times 10^{-8}$	$2,2 \times 10^{-8}$

Des normes d'interdiction de commercialisation ont été instaurées depuis 1987 dans l'Union Européenne, pour l'éventualité d'un accident futur [Règlements Euratom 3954/87, 2218/89] (e).

Denrées alimentaires prêtes à la consommation (e)			
Aliments pour le nourrisson	Produits laitiers	Autres produits alimentaires	Liquides destinés à la consommation
150 $Bq.kg^{-1}$	500 $Bq.kg_{-1}$	2000 $Bq.kg^{-1}$	500 $Bq.kg^{-1}$

(a) L'iode. CEA. Direction des Sciences du Vivant. Cellule CARMIN. 12/04/2005.
(b) Iode radioactif – Accident nucléaire. CEA. Direction des Sciences du Vivant. Cellule CARMIN.
(c) Fiche technique de radioprotection. Iode 131. IRSN. ED 4300. Septembre 2007.
(d) Rapport UNSCEAR 2000. Vol. I. Sources and effects of ionizing radiation. Rapport du Comité scientifique des Nations Unies pour l'étude des effets des rayonnements ionisants. Assemblée générale. Nations Unies, New York, 2000. Documents officiels. 55e session. Supplément n° 46 (A/55/46). Chapitre V. L'accident de Tchernobyl.
(e) Fiche radionucléide IRSN. Iode 131. Aspects sanitaires. 01/08/2001.

Lanthanides

Les lanthanides, également appelés terres rares, forment une famille de quinze éléments de numéro atomique variant de 57 (pour le lanthane) à 71 (pour le lutétium). Ils sont groupés dans la troisième colonne du tableau de la classification périodique des éléments.

Les propriétés chimiques des lanthanides sont sensiblement similaires. Ce sont tous des oligo-éléments réagissant facilement avec les corps oxydants, parfois avec l'eau ; ils forment un grand nombre de complexes avec des anions organiques. Les métaux du groupe cérique (du lanthane au samarium) sont malléables et ductiles ; les métaux du groupe yttrique (de l'europium au lutétium) sont plus durs, à l'exception de l'ytterbium.

Les lanthanides sont principalement utilisés dans l'industrie du verre, de l'optique, de l'électronique, de l'électrotechnique et dans l'industrie du laser. Certains lanthanides (gadolinium, cérium) trouvent des applications en technologie nucléaire ; ils peuvent se retrouver dans les eaux, principalement suite aux rejets des usines de séparation des terres rares.

Il est également à noter que la combustion de charbon libère des quantités non négligeables de lanthanides.

À la suite d'une incorporation par ingestion, les lanthanides sont très peu métabolisés, l'absorption au niveau du tractus gastro-intestinal étant généralement négligeable. Le pouvoir carcinogène des lanthanides est généralement décrit pour les isotopes radioactifs ; il est par conséquent à relier à l'émission de radiations et non à la toxicité chimique des composés.

La fiche radionucléide IRSN « Cérium 144 et environnement » (08/01/2003) concerne le cérium 144 (période 284,5 jours), produit de fission le plus important d'un point de vue radioécologique, des isotopes radioactifs du cérium. À la Hague, le cérium 144 représente une part importante, de l'ordre de 12 %, des rejets β globaux.

Les valeurs des LAI et des LCDA des lanthanides respectivement exprimées en becquerels et en becquerels par mètre cube sont données dans l'annexe 4 du décret n° 86-1103 du 02/10/86.

Lithium

Le lithium existe dans la nature sous forme de mélange des deux isotopes : ^{6}Li et ^{7}Li. Certaines eaux douces (cf. § A-7.32) peuvent en contenir quelques milligrammes par litre et des teneurs de l'ordre de 0,1 mg/L peuvent exister dans les eaux de puits ; en général dans les eaux de surface les concentrations sont de l'ordre de quelques microgrammes par litre. Les teneur en lithium les plus élevées sont rencontrées dans les eaux minérales et les eaux saumâtres.

Le lithium intervient comme épaississeur dans les huiles lubrifiantes sous forme de stéarate, comme fondant dans les soudures, comme désoxydant dans certains alliages ; ce métal alcalin est aussi employé dans les verreries, l'industrie chimique et la fabrication de batteries. L'hypochlorite de lithium est utilisé pour la production de chlore en particulier dans les piscines. Enfin du point de vue nucléaire, le ^{6}Li sert à la fabrication du tritium et des engins thermonucléaires.

Dans les circuits des réacteurs nucléaires à eau et pour limiter la corrosion, on pratique une addition contrôlée d'hydroxyde de lithium (2,2 à 0,7 mg/L) afin de maintenir le *p*H (à 25 °C) entre 5,4 et 10,5.

En raison de ces emplois variés, le lithium est susceptible de se retrouver dans les eaux et son élimination éventuelle est très difficile.

Pour des teneurs de quelques dizaines de milligrammes par litre, il n'entraîne pas d'inconvénients pour l'homme. Certains auteurs indiquent même que la présence de lithium dans les eaux naturelles aurait une action pharmacodynamique intéressante dans l'amélioration des troubles mentaux.

En fait, bien que des résultats remarquables aient été obtenus dans les traitement en psychiatrie et qu'il existe une action prophylactique pour les psychoses maniaco-dépressives, il faut se souvenir que l'ion lithium a une certaine toxicité.

Absorbé par voie digestive, il ne se lie pas avec les protéines sanguines et diffuse rapidement dans les espaces intra- et extracellulaires ; par contre, il ne pénètre que lentement dans le système nerveux central. L'élimination du lithium se fait essentiellement par les reins (95 %) ; il faut noter que toute restriction sodée majore la rétention, donc la toxicité du lithium. L'absorption de lithium par la femme enceinte risquerait de provoquer des malformations chez le fœtus ; par ailleurs cet élément passe dans le lait maternel.

L'action thérapeutique est obtenue pour une lithiémie comprise entre 0,70 et 1,20 milliéquivalent par litre. En raison d'une diffusion rapide dans le sang, les effets toxiques peuvent se manifester pour des lithiémies supérieures à 1,6 mé/L soit environ 11 mg/L. Ces phénomènes se compliquent en cas d'insuffisance rénale ou lors d'un régime désodé. L'intoxication qui se traduit par des troubles neurologiques (convulsions, ataxie, confusion mentale, incoordination motrice, coma, etc.) est liée à l'accumulation du métal par un défaut d'élimination ou à l'absorption de doses trop élevées. Le mécanisme de cette action toxique n'est pas élucidé ; certains auteurs pensent qu'elle serait fonction de la capacité que possède le lithium de remplacer le sodium dans l'organisme, et de déclencher ainsi des troubles intracellulaires du métabolisme potassique. Il a été aussi signalé l'action

paradoxale du lithium susceptible de déterminer aussi bien une hypo- qu'une hyperthyroïdie. L'emploi de sels de lithium dans le traitement de la goutte ne repose sur aucune base scientifique valable.

Il a été signalé qu'à partir de 0,1 mg/L cet élément entraîne, pour les agrumes, des dommages allant des marbrures des feuilles jusqu'à la mort de l'arbre.

Magnésium

Le magnésium est un des éléments les plus répandus dans la nature ; il constitue environ 2,1 % de l'écorce terrestre. La plupart de ses sels sont très solubles dans l'eau, même le carbonate peut être dissous jusqu'à 300 mg/L, à 20 °C. Son abondance géologique, sa grande solubilité, sa large utilisation industrielle (chimie de la potasse, alliages, pyrotechnie, batteries sèches, réducteur chimique, etc.) font que les teneurs dans l'eau peuvent être importantes, allant de quelques milligrammes à, quelquefois, plusieurs centaines de milligrammes par litre (cf.§ A-7.33). La teneur dépend de la composition des roches sédimentaires rencontrées (calcaires dolomitiques, dolomies du Jurassique ou du Trias moyen). Les valeurs les plus faibles sont relevées dans la plupart des eaux des massifs anciens. Le magnésium constitue un élément significatif de la dureté de l'eau ; sa teneur dépasse rarement 15 mg/L en Europe. Il est présent sous forme de carbonates et d'hydrogénocarbonates. L'eau de mer en contient environ 1 350 mg/L. Le magnésium est par ordre d'importance le deuxième cation contenu dans les cellules après le potassium. Il joue le rôle de stabilisateur de la membrane cellulaire en protégeant la cellule contre une rétention de sodium. Il y a une relation étroite entre les concentrations de potassium et de magnésium à la fois intra- et extra-cellulaires. Le tableau clinique d'un déficit en magnésium, qui revêt des formes polymorphes non spécifiques, s'accompagne souvent d'un déficit en potassium ; il peut aussi en être la cause. Le magnésium est un élément indispensable pour la croissance ; il intervient comme élément plastique dans l'os et plus de 50 % du magnésium de l'organisme (soit 24 g) appartient au squelette. Il constitue un élément activateur pour les systèmes enzymatiques (phosphatases, catalases, carboxylases), pour la synthèse des protéines et pour le métabolisme des lipides. L'insuffisance magnésique entraîne des troubles neuro-musculaires ; l'intérêt du magnésium dans la thérapeutique de la spasmophilie est bien connu. Un déficit en magnésium peut aussi se traduire par des manifestations cardiaques, lésions des coronaires avec troubles du rythme. L'apport journalier nécessaire à l'adulte est de l'ordre de 6 mg/kg soit 420 mg pour un adulte de 70 kg. Chaque jour est éliminée par voie urinaire environ 1/60 de la charge en magnésium de l'organisme. Des études récentes ont montré que le déficit quotidien en magnésium pourrait être d'environ 100 mg/j pour un adulte. Il s'agit d'une insuffisance d'apport qu'il faut distinguer de la déplétion. Certains aliments sont riches en magnésium (légumes et fruits secs, coquillages et crustacés, etc.).

À partir d'une concentration de 100 mg/L et pour des sujets sensibles, le magnésium donne un goût désagréable à l'eau. S'ils ne provoquent pas de

phénomènes toxiques, les sels de magnésium et surtout les sulfates ont un effet laxatif à partir de 400 à 500 mg/L ; cette action diminue assez rapidement avec l'accoutumance. L'interprétation du taux de magnésium dans l'eau doit se faire en liaison avec les sulfates. Élément essentiel de la nutrition chez l'homme et l'animal, le magnésium est aussi un composant de tous les types de chlorophylle. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme teneur du magnésium dans l'eau destinée à la consommation humaine un niveau guide de 30 mg/L et une concentration maximale admissible de 50 mg/L. L'ancienne réglementation française retenait comme valeur limite 50 mg/L. Les réglementations actuelles ne préconisent pas de normes pour ce paramètre.

Manganèse

Le manganèse est très répandu dans la nature. Les concentrations dans l'écorce terrestre peuvent varier de 500 à 900 mg/kg. Les minerais les plus connus sont la pyrolusite, la rhodocrosite, la braunite. Son utilisation industrielle est grande : métallurgie (aciers, alliages, soudures), industrie électrique (électrodes, piles sèches), industrie chimique (catalyseurs, colorants), industrie du verre et de la céramique, carburants (additifs organométalliques).

Le manganèse présent dans l'eau (cf. § A-7.34) peut s'y trouver, à des valences différentes (II, III et IV), à l'état soluble ou en suspension ou sous forme de complexes ; sa solubilité dépend du *p*H, de l'oxygène dissous, de la présence d'agents complexants. Certaines eaux souterraines ont des teneurs de l'ordre de 1 mg/L en particulier lorsqu'il y a une attaque par l'eau de la roche support en milieu réducteur, ou sous l'action de certaines bactéries. Dans ces conditions, il est souvent associé au fer avec lequel il coprécipite par oxydation. Les eaux de surface en contiennent généralement moins de 0,05 mg/L.

La concentration en manganèse de l'eau de mer varie suivant les zones de 0,5 µg/L à 6 µg/L. La teneur de l'air peut varier de 0,01 à 0,07 µg/m^3 dans les zones non polluées ; à proximité des installations industrielles, la concentration peut s'élever de 0,2 à 0,3 µg/m^3.

Le manganèse est nécessaire à l'homme pour la croissance, pour le métabolisme des glucides et des lipides et comme catalyseur dans certaines réactions enzymatiques. Les besoins journaliers sont estimés de 2 à 5 mg/j pour l'adulte et à moins de 1,5 mg/j pour l'enfant. L'apport quotidien se situe entre 2 et 9 mg, les produits les plus riches étant les céréales. Le manganèse absorbé d'origine hydrique ne représente guère plus de 1 % de l'apport total. L'apport moyen par l'eau de boisson serait de 10 à 50 µg/j. La charge corporelle ne serait que de 12 à 20 mg. L'absorption par voie digestive est limitée à 4 % de la quantité ingérée, l'élimination se fait surtout par la voie biliaire et les selles ; l'évacuation urinaire est faible.

Les intoxications par le manganèse sont extrêmement rares ; en dehors d'une absorption accidentelle ou volontaire en quantités importantes, le risque est exclusivement d'origine professionnelle. En pratique, la seule voie dangereuse de pénétration est la voie pulmonaire. Dans ce cas, les

organes cibles sont les poumons et le système nerveux central. La caractéristique principale de l'intoxication chronique est une pathologie neurologique du type maladie de Parkinson. La maladie évolue lentement et à partir d'un certain stade, elle a un caractère irréversible. La pollution de l'eau par le manganèse n'est pas un problème sauf en cas de rejet exceptionnel. La principale source de pollution de l'atmosphère provient des traitements métallurgiques.

Au point de vue gustatif, le manganèse peut donner un goût désagréable à l'eau. Par ailleurs, même à des doses faibles (0,02 mg/L), il est susceptible de former une couche noire sur les canalisations qui lorsqu'elle se détache donne un aspect peu engageant à l'eau. Au point de vue domestique, il présente l'inconvénient, même en quantités faibles (± 0,1 mg/L), de tacher l'émail et le linge. Dans les usines de traitement des eaux, il favorise la croissance de bactéries du groupe des sidérobactériales (*Gallionella*) perturbant le fonctionnement des filtres à sable et pouvant amener la formation de dépôts dans les canalisations. Il peut cependant être utilisé à l'état heptavalent, sous forme de permanganate, pour l'élimination des matières organiques donnant des goûts désagréables.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS indique une valeur guide provisoire de 500 µg/L. Toutefois, en raison de risques de taches sur les appareils sanitaires, elle préconise une valeur limite de 100 µg/L.

Les directives du Conseil des communautés européennes indiquent un niveau guide de 50 µg/L. La réglementation française retient cette même valeur de 50 µg/L comme référence de qualité. En France on estime que 1 à 2 % des unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants distribuent une eau dont la teneur moyenne en manganèse est supérieure ou égale à 50 µg/L.

Dans les stations de traitement, l'élimination du manganèse peut s'effectuer par oxydation (oxygène, dioxyde de chlore, permanganate de potassium, ozone) ou par voie biologique.

Les sels de manganèse, en dehors des permanganates, ne peuvent être considérés comme toxiques pour la vie aquatique, sauf à des teneurs très élevées.

Matières humiques (acide humique et acide fulvique)/ Matières organiques

Il est habituellement admis que les substances humiques s'élaborent à partir de la dégradation microbienne de la cellulose et des débris organiques (cf.§ A-9.b). De ce fait, les composés de type humique peuvent constituer une part significative des matières organiques de l'eau, ils sont à l'origine de la couleur jaune-brun fréquemment rencontrée dans l'eau de certaines régions. Les humates de calcium étant insolubles, les concentrations s'élèveront lorsque la minéralisation de l'eau s'abaissera. Les acides humiques contiennent des groupes aromatiques et aliphatiques avec pré-

dominance de ces derniers. Les acides fulviques auraient une structure voisine des acides humiques mais une masse moléculaire plus petite.

La matière organique des eaux naturelles naturelle est souvent assimilée en totalité à la matière organique naturelle (MON), bien que certains micropolluants présents dans les milieux aquatiques soient d'origine anthropique. En fait, c'est au moins 90 % de la charge en matières organiques des eaux naturelles qui est représentée par la MON et son intérêt est primordial pour la production d'eau potable. La MON est en effet concernée par la majorité des procédés de traitement mis en œuvre dans les usines de production d'eau potable. Réservoir principal de précurseurs de sous produits de désinfection (chloration, ozonation), sa structure moléculaire lui permet une bonne élimination par coagulation/floculation. Elle est en outre largement impliquée dans les problèmes de colmatage des membranes et sa fraction biodégradable (CODB) contribue aux proliférations bactériennes en réseau.

La MON des eaux est habituellement quantifiée par sa teneur en COD (ou en COT), celui-ci représentant environ 50 % de la concentration massique des substances humiques.

La MON serait constituée pour l'essentiel par des structures macromoléculaires de type polymérique à caractère acide. Mais elle contient également des petits acides organiques, des acides aminés des sucres, des amino-sucres… Son fractionnement sur des résines (type XAD-8 et XAD-4) permet de distinguer une fraction hydrophobe, une fraction hydrophile et une fraction de polarité intermédiaire dite « transphilique » (cf. § A.9.10.1).

Ces polyélectrolytes organiques et naturels jouent un rôle important dans le transport des polluants par l'eau. Ces phénomènes complexes se caractérisent par l'adsorption de dérivés organiques comme les pesticides ou les enzymes, des réactions entre radicaux incluant des transports de charge, la formation de complexes avec les éléments métalliques, des réactions d'échange d'ions, des réactions de solubilisation dans lesquelles des composés à caractère insoluble deviennent partiellement solubles. Leur combinaison avec le fer ferreux maintient le fer en solution en retardant l'oxydation en fer ferrique. La capacité d'échange des substances humiques peut aller de 200 à 500 mEq pour 100 g d'acide humique (Kononova). La capacité d'échange des acides humiques dépend du *p*H ; elle est plus faible à un *p*H bas qu'à un *p*H élevé. L'adsorption intéresse non seulement les composés solubles mais aussi ceux qui sont insolubles ; c'est ainsi que la dégradation de beaucoup de pesticides peut être inhibée.

S'il n'apparaît pas qu'il soit dangereux pour la santé d'absorber des eaux avec des teneurs plus élevées, il y a lieu de se placer pour l'interprétation dans le contexte général des contrôles de potabilité (bactériologie, nitrites, ammoniaque, etc.). D'une façon générale, une teneur élevée en matières organiques devra toujours faire suspecter une contamination microbienne ou autre. La matière organique en tant que telle n'est pas toxique, surtout si on tient compte de la quantité absorbée journalièrement par l'alimentation. Toutefois, il existe toujours la possibilité de la voir réagir avec les composés halogénés utilisés pour le traitement de l'eau, avec formation de trihalométhanes. Elle peut aussi être à l'origine de goûts et d'odeurs désa-

gréables. Toutefois, certaines eaux artésiennes, les eaux des régions tourbeuses et chargées d'humus présentent des concentrations en matières organiques assez élevées tout en étant inoffensives. Par contre, des eaux n'en renfermant que de faibles traces peuvent être très dangereuses par les éléments microbiens qu'elles véhiculent.

Voir aussi Carbone organique total, DBO_5 , DCO, Oxydabilité au permanganate de potassium.

Matières en suspension

La teneur et la composition minérale et organique des matières en suspension dans les eaux sont très variables selon les cours d'eau (sables, boues, particules organiques, plancton, etc.) ; elles sont fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, des travaux, des rejets, etc. (cf.§ A-3.3) On distingue les matières décantables (cf. § A-3.2), qui se séparent de l'eau par gravité, des matières colloïdales séparables par coagulation. D'une façon générale, les matières en suspension interviennent dans la composition de l'eau par leurs effets d'échanges d'ions ou d'adsorption, aussi bien sur les éléments chimiques à l'état de traces que sur les micro-organismes. En particulier, les argiles et les particules organiques ayant une large surface d'absorption constituent un support idéal pour les ions, les molécules diverses et les agents biologiques. De ce fait, ils peuvent constituer un vecteur pour la pénétration de ces produits dans l'organisme, leur action étant alors fonction de leur libération éventuelle dans le transit alimentaire.

En fait, tous les cours d'eau contiennent des matières en suspension et des teneurs de quelques milligrammes par litre ne posent pas de problèmes majeurs. En dehors des périodes de crues, la teneur en matières en suspension est presque toujours inférieure à 25 mg/L. Du point de vue piscicole, dans les cours d'eau normalement peuplés, on peut considérer qu'à partir de 75 mg/L la situation est particulière ou anormale ; pour les peuplements en Salmonidés, il est généralement admis que les teneurs supérieures à 10 mg/L sont peu favorables. Des teneurs plus élevées peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuer l'oxygène dissous, compromettre le développement des œufs, réduire le stock de nourriture disponible et limiter ainsi le développement ichtyologique en créant des déséquilibres entre les diverses espèces. L'asphyxie des poissons, par colmatage des branchies, est souvent la conséquence d'une teneur élevée en matières en suspension, en particulier au moment des vidanges périodiques des barrages. Les dépôts dans les zones calmes peuvent entraîner des développements anaérobies, avec leurs conséquences habituelles.

Les anciennes directives du Conseil des communautés européennes préconisaient que les matières en suspension soient absentes dans l'eau destinée à la consommation humaine. Ces directives, comme la réglementation française, prévoient aujourd'hui des contrôles et des limites sur le paramètre turbidité.

Il est bien évident qu'une eau ayant une certaine turbidité ne peut, du fait de ses caractéristiques organoleptiques, donner satisfaction au consom-

mateur. Un traitement de coagulation-floculation-filtration s'avère alors nécessaire.

Voir aussi Turbidité.

Mercaptans ou thiols

C'est à Zeise (1833) que l'on doit l'appellation « mercaptan » (*corpus mercurium captans*). Ce sont les homologues soufrés des alcools ; on distingue habituellement les mercaptans aliphatiques et les mercaptans aromatiques. Ils peuvent se former spontanément par la putréfaction des substances aromatiques soufrées ainsi que par la décomposition des substances organiques sulfurées au cours des opérations de raffinage ou de craquage des produits pétroliers. Leur odeur désagréable et spécifique les fait utiliser comme traceurs dans certains gaz.

Ces produits sont très toxiques par inhalation. D'une façon générale, leur toxicité est fonction de la chaîne hydrocarbonée. Les dérivés aliphatiques à chaîne courte (méthylmercaptan, éthylmercaptan) ont une action toxique voisine de celle de l'hydrogène sulfuré. Les dérivés aliphatiques à chaîne longue et les aromatiques ont une toxicité plus faible, à l'exception du benzène thiol. Dans les installations de traitement des eaux usées, les mercaptans constituent une gêne particulière tant pour le personnel que pour le voisinage (cf. § A-11.3).

Mercure

Bien qu'étant un élément peu répandu sur l'écorce terrestre, le mercure peut se retrouver dans les sols à des teneurs variant de 0,01 à 20 mg/kg. Il se trouve dans les minéraux sulfureux, le cinabre (HgS rouge), le métacinabre (HgS noir) et dans le livingstone. Il se dégage naturellement par évaporation, érosion, éruptions volcaniques... environ 10^5 t/an. Par ailleurs, la contamination géologique de nombreux minerais par le mercure explique sa présence dans les rejets de certaines activités industrielles : extractions minières, raffineries, cimenteries, sidérurgie, traitement des phosphates, raffinage du mercure, combustion des hydrocarbures fossiles et du charbon, industries de la pâte à papier, etc. La production annuelle mondiale serait d'environ 10^4 tonnes. Seulement 20 % de cette quantité seraient recyclés, le reste se retrouvant en grande partie dans l'environnement. Le mercure à l'état métallique est pratiquement insoluble dans l'eau (cf. § A-7.35) ; il donne deux séries de sels : monovalents (la plupart insolubles) et divalents (la plupart solubles). Le mercure est susceptible de se combiner avec des radicaux organiques et de donner des composés dans lesquels il est lié par covalence à un atome de carbone. Le mercure est utilisé principalement comme cathode dans l'industrie du chlore et de la soude, et comme catalyseur dans la production de l'acétaldéhyde. Il entre aussi dans la fabrication d'appareillages électriques (lampes, batteries), d'instruments de contrôle (thermomètres, baromètres, interrupteurs), de peintures marines et de certains fongicides employés dans l'agriculture et dans les papeteries.

La toxicité des sels varie très largement en fonction de leurs caractéristiques chimiques, minérales ou organiques, et de leur absorption par le tractus gastro-intestinal. Ainsi, les sels mercureux tels que le calomel (chlorure mercureux) sont faiblement toxiques ; par contre, la dose mortelle du chlorure mercurique se situe entre 0,15 et 0,5 g. Sous forme organique, plus de 90 % du mercure ingéré est absorbé par le tractus gastro-intestinal alors que sous forme métallique, le mercure ne l'est que faiblement (15 %). L'intoxication par les sels mercuriques se traduit par une stomatite, des troubles neurologiques, un syndrome néphrotique. Le mercure peut aussi donner des dérivés organomercuriels de toxicité nettement plus élevée (composés alkylés, arylés, alkoyalkylés). Le mécanisme de l'action toxique pourrait être lié à une interaction avec les groupements thiols des protéines ; par ailleurs, le méthylmercure inactiverait de nombreux systèmes enzymatiques.

Les composés alkylés, dont la période biologique est de l'ordre de 70 jours, ont une action majeure sur le système nerveux central et conduisent à une encéphalopathie avec troubles sensoriels, atteinte des fonctions supérieures, décès, atteinte fœtale. L'absorption journalière de 4 μg de mercure sous forme de méthylmercure par kilogramme de poids corporel peut amener des troubles neurologiques irréversibles chez les sujets ayant une susceptibilité individuelle particulière. Les composés organomercuriels utilisés comme fongicides pour les semences ont été à l'origine de milliers de morts en Irak, Pakistan, Guatemala, Ghana. Le mercure constitue un risque important de pollution de l'environnement : en effet, son facteur d'accumulation dans les coquillages et les poissons est considérable ($5 \cdot 10^5$). Ces derniers n'ayant pas de système efficace de détoxication et d'élimination du mercure, l'accumulation s'accroît avec la taille, l'âge, et varie selon les espèces. En fait, le mercure des produits de la mer, presque entièrement sous forme de méthylmercure, constitue la source majeure d'ingestion de ce toxique chez l'homme.

Les risques de contamination par le méthylmercure s'accroissent par le fait que des processus naturels peuvent donner naissance à des complexes organiques sous l'action de micro-organismes, en particulier dans les sédiments. En milieu anaérobie, le mercure est généralement sous forme de sulfure stable, mais l'aération naturelle ou artificielle (curage, dragage) des couches superficielles des sédiments facilite l'action des souches méthylantes. Dans ces conditions, il existe une quantité pratiquement inépuisable de méthylmercure pouvant être libérée en permanence dans l'environnement. La centaine d'intoxications avec 40 % de mortalité qui s'est développée dans la baie de Minamata a attiré l'attention sur les risques importants d'une consommation excessive de poissons contaminés. Du fait des rejets effectués, certains sédiments de cette baie renfermaient jusqu'à 2 % de mercure.

La concentration du mercure dans les végétaux peut varier de 1 à 10 μg/kg ; toutefois, des teneurs plus élevées peuvent être rencontrées si le sol est riche en mercure.

D'une façon générale, la teneur en mercure des eaux souterraines n'excède pas 0,1 μg/L bien qu'elle puisse atteindre 80 μg/L dans des sources situées à proximité de gisements minéraux. En ce qui concerne les eaux douces superficielles, sauf cas de pollution caractérisée, la teneur en mer-

cure peut varier entre 0,1 et 2 μg/L. Il a été signalé que le mercure peut exister dans certaines tuyauteries en plastique d'où il peut passer en solution.

La teneur naturelle en mercure de l'eau de mer n'a jamais été nulle ; elle est très anciennement liée à l'évolution géologique de la planète. Actuellement, les concentrations varient suivant les océans entre 0,03 et 2 μg/kg, la pollution naturelle étant probablement de plusieurs centaines de fois supérieure à la pollution industrielle surajoutée. Des contaminations mercurielles ont été enregistrées dans différentes zones côtières des mers bordant l'Europe sans qu'il ait été noté d'intoxications associées.

En ce qui concerne la dose hebdomadaire tolérable temporaire, un comité mixte d'experts FAO/OMS a fixé celle-ci à « 0,3 mg de mercure total par personne, dont pas plus de 0,2 mg sous forme de méthylmercure, CH_3Hg^+ (exprimé en mercure) ; ces chiffres correspondent respectivement à 0,005 mg et 0,0033 mg par kg de poids corporel. Lorsqu'on s'aperçoit que l'apport mercuriel total de la ration alimentaire dépasse 0,3 mg par semaine, il faut doser également les composés méthylmercuriels. Si l'excès est représenté uniquement par du mercure inorganique, la limite provisoire du mercure total mentionnée ci-dessus ne s'applique plus et devra être réévaluée en tenant compte de tous les facteurs en présence ».

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS, les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent comme valeur limite 1 μg/L.

De nombreuses études permettent de considérer que l'absorption quotidienne alimentaire de mercure est en général inférieure à 10 μg. Bien entendu, ce chiffre peut s'accroître sensiblement et comporter une fraction importante de méthylmercure chez les consommateurs de quantités importantes de produits de la mer. Si l'on retient que l'alimentation normale contribue à l'absorption de 10 μg/j de mercure soit 70 μg par semaine, et si la concentration limite dans l'eau potable est respectée, on voit que l'apport hydrique pour 2 L/j ne représente en moyenne que le cinquième de l'apport alimentaire. Il apparaît donc qu'il existe une marge significative de sécurité par rapport à la dose hebdomadaire tolérable qui est de 200 μg de méthylmercure, et ceci même en supposant que la totalité du mercure alimentaire se trouve sous forme organique. Dans le cas de l'eau, cette hypothèse est pessimiste car il est généralement admis que le mercure s'y trouve principalement sous forme minérale. Étant donné qu'il est souvent lié aux particules en suspension, les traitements de floculation peuvent conduire à 80 % d'élimination. En fait, les intoxications mercurielles d'origine hydrique sont rarissimes.

La protection contre les pollutions alimentaires passe par des dispositions administratives décourageant l'utilisation des composés du mercure et par le contrôle des rejets. Ainsi en France, il existe une réglementation relative aux rejets de mercure en provenance des installations classées (électrolyse des chlorures alcalins et autres secteurs).

Microcystine LR

Fin des années 90, les autorités sanitaires ont été alertées sur les dangers potentiels liés à la présence de cyanobactéries toxiques dans les eaux en France et des risques liés aux cyanotoxines dans les eaux de consommation et les eaux de baignade et de loisirs (cf. § A-10.19). Certaines algues, et en particulier les cyanobactéries ou cyanophycées (encore appelées algues bleues ou algues bleues/vertes, cf. § C-3.2) peuvent produire plusieurs types de toxines (les cyanotoxines), susceptibles d'agir sur des organes cibles différents (foie, système nerveux, reins, intestins). Ces toxines intracellulaires, synthétisées par les cellules en croissance, sont le plus souvent libérées lors de la lyse des algues.

Plusieurs espèces de cyanobactéries sont potentiellement toxiques. Une même espèce de cyanobactéries peut produire plusieurs cyanotoxines et certaines toxines peuvent provenir d'espèces différentes. Plus de 70 variants de microcystines sont identifiés à ce jour ; ce sont sont des hépatotoxines (en particulier la microcystine-LR) qui sont les plus fréquemment retrouvées lors des épisodes de prolifération algale. La microcystine-LR qui présente une toxicité élevée sur la souris (DL_{50} = 5 à 10 mg/kg pour une administration orale) est la molécule la plus recherchée dans les eaux ; c'est actuellement la plus étudiée et la mieux connue (cf. § A-10.19).

La dose toxique de référence étant très faible 40 µg/kg/j, le calcul de la valeur guide dans l'eau potable a conduit à une valeur évidemment faible même avec un facteur de sécurité de 1 000 seulement. Les directives européennes et le code français de la santé publique ont donc introduit une limite de qualité de 1 µg/L pour le paramètre microcystine-LR dans les eaux destinées à la consommation humaine. Il est précisé que « la recherche doit être menée en cas de prolifération algale dans les eaux brutes », mais non seulement le terme de « prolifération algale » n'a pas de définition précise, mais les blooms algaux ne sont pas toujours prévisibles. Il est donc conseillé de faire des contrôles (relativement) régulièrement avec les eaux à risques, sachant que les plus fortes concentrations en microcystine sont généralement observées en juillet et septembre.

La seule action préventive semble concerner la réduction des apports nutritifs sur le bassin versant et dans les sédiments, bien qu'une étude en laboratoire sur des souches de cyanobactéries extraites d'une rivière de l'ouest de la France n'ait pas réellement démontré un effet positif sur la microcystine intracellulaire L'usage des biocides sur la ressource, et notamment du sulfate de cuivre, est fortement déconseillé.

Les traitements de clarification mis en oeuvre sur les usines de production d'eau potable sont toujours plus efficaces sur le nombre de cellules que sur les concentrations en microcystine extracellulaire (notamment la flottation, la microfiltration et l'ultrafiltration).

Pour ce qui concerne la microcystine extracellulaire, il a été montré :

– que la nanofiltration et l'osmose inverse sont (évidemment) très efficaces pour retenir les toxines,

– que l'adsorption sur charbon actif en poudre conduit à de bons abattements à condition d'être vigilant sur la compétition apportée par les matières organiques naturelles (toujours présentes dans ce type d'eaux),

– que l'oxydation par l'acide hypochloreux et (surtout) par l'ozone dégrade facilement les toxines extracellulaires en solution (à utiliser en fin de traitement notamment après avoir éliminé les cyanobactéries par clarification).

La désinfection par irradiation UV paraît être également un bon moyen pour éliminer la toxicité d'une eau contaminée. D'après certains auteurs, sous irradiation UV, les microcystines perdent leur caractère toxique en étant modifiées au niveau de la fonction diène contenue dans un acide aminé commun à toutes les microcystines (ADDA ou acide 3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyl-4 (E), 6 (E)-decadiènoïque) (cf. § A-10.19).

Depuis janvier 2007, la limite de qualité de 1 µg/L s'étend à la microcystine totale. La méthode présentée dans cet ouvrage permet de doser la microcystine-RR et la microcystine-YR (cf. § A-10.19).

Minéralisation globale

La minéralisation est fonction de la géologie des terrains traversés. D'une façon générale, elle est plus élevée dans les eaux souterraines que dans les eaux superficielles. Les concentrations en résidus secs sont faibles lorsqu'il s'agit de roches granitiques, de sables siliceux et plus élevées dans le cas de roches sédimentaires.

Les eaux très minéralisées, du fait de leur teneur en sodium, en calcium, en magnésium, en chlorures, en sulfates et en hydrogénocarbonates, semblent bien contribuer à l'homéostasie de l'homme et surtout de l'enfant ; cependant, elles peuvent poser des problèmes endocriniens très complexes. Une eau dont la minéralisation est inférieure à 600 mg/L est généralement considérée comme bonne ; au-delà de 1 200 mg/L, elle devient, sauf accoutumance, assez désagréable. L'OMS recommande pour des considérations gustatives une teneur limite de 1 000 mg/L dans l'eau destinée à la consommation humaine. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes et l'ancienne réglementation française indiquaient comme valeur limite 1 500 mg/L après dessiccation à 180 °C.

Il convient toutefois de remarquer qu'une application trop stricte de ces valeurs limites restreindrait considérablement les possibilités d'alimentation en eau dans certains territoires. Ainsi en Afrique, de très nombreuses populations consomment, sans pathologie particulière et sans autre inconvénient qu'une saveur désagréable, des eaux ayant une minéralisation beaucoup plus élevée : Gabès (3 g/L), Erfoud (4,3 g/L), Zagora (3 g/L). Le seul problème est l'accoutumance plus ou moins rapide des gens de passage. Si des chiffres élevés doivent rester exceptionnels, il vaut mieux cependant distribuer en quantité suffisante des eaux médiocres qu'un volume restreint de qualité acceptable.

Différents auteurs se sont attachés à déterminer les limites de potabilité des eaux. Schoeller distingue une *potabilité absolue*, indépendante des régions, du climat et ne dépendant que de la physiologie humaine, et une *potabilité relative* dépendant de la composition chimique minimale, moyenne et maximale des eaux de la région. La *potabilité relative* « bonne » est déter-

minée par les meilleures eaux de la région. Il classe les eaux suivant le tableau ci-contre :

Potabilité	Bonne	Passable	Médiocre	Mauvaise	Momentanée
Extrait sec (mg/L)	0-500	500-1 000	1 000-2 000	2 000-4 000	4 000-8 000

Pour cet auteur, la limite de potabilité absolue est de 8 g/L d'extrait sec correspondant à un chiffre assez voisin de l'isotonicité du sang.

Gomella a établi une classification des eaux suivant l'étude du goût et de l'activité physiologique. Pour cette dernière question l'auteur est parti de l'idée que les ions actifs sont les cations Mg^{2+} et Na^{+} associés aux anions SO_4^{2-} et les cations Mg^{2+} associés aux ions Cl^{-}. Il tient compte en outre du nombre de litres d'eau ingérés par jour.

Classification d'après le goût		**Classification d'après l'activité physiologique**				
	Indice de salinité *G* (°)		**Indice de salinité *S* (°)**			
			1 L/j	**2 L/j**	**3 L/j**	**10 L/j**
Eaux bonnes	10-50	Eaux sans action	60	30	20	6
Eaux acceptables	50-100	Eaux avec une action légère	120	60	40	12
Eaux désagréables mais supportables	100-200	Eaux certainement actives	180	90	60	18
Eaux très difficilement supportables	> 200	Eaux fortement actives	500	300	200	60

Les indices de salinité *g* et *S* sont calculés de la manière suivante : l'indice de salinité *g* est la somme des teneurs en ions SO_4^{2-} et Cl^{-} exprimées en degré de minéralisation, c'est-à-dire en 2/10 000 d'équivalent gramme.

L'indice de salinité *S* est la somme de trois valeurs déterminées comme suit :

Soit *m, n, s, c,* les teneurs en ions Mg^{2+}, Na^{+}, SO_4^{2-} et Cl^{-} exprimées en degrés de minéralisation

Si $s > n$, n est la première valeur.

Si $c > m$, m est la deuxième valeur.

Si $s - n > 0$, $m - c > 0$ et $m - c > s - n$,

l'expression $(s - n)$ est la troisième valeur ; dans ce cas là

$$S = n + c\,(s - n)$$

La troisième valeur peut ne pas exister notamment quand une des expressions $s - n$ est négative. S se réduit alors à la somme des deux premières valeurs.

D'un point de vue industriel, les limites de concentration des matières dissoutes ou en suspension dans l'eau vaporisée sont les suivantes :

Pression (Pa)	Minéralisation globale (mg/L)	Matières en suspension (mg/L)
1 380 000	4 000	350
3 100 000	3 000	250
6 200 000	1 500	60
9 650 000	1 000	20

Voir aussi Conductivité.

Molybdène

Le molybdène existe dans la nature sous forme de sulfure de molybdène et de molybdate de plomb ; il est répandu à peu près uniformément dans les roches ignées et l'écorce terrestre en contient à peu près 2 mg/kg. Le sulfure de molybdène est peu soluble dans l'eau mais il peut être oxydé en molybdate, plus soluble. Le molybdène peut être rencontré à des teneurs généralement inférieures à 100 µg/L dans les eaux de surface (cf. § A-7.36). Il peut avoir pour origine le lessivage des sols, les fumées provenant de la combustion des combustibles fossiles, les rejets industriels, les exploitations minières du métal et aussi celles de l'uranium. Le molybdène est très utilisé dans la fabrication des aciers spéciaux et des résistances électriques, ainsi que dans l'industrie chimique (réactifs, catalyseurs) et d'autres industries (verre, céramique). L'eau de mer en contient de 0,1 à 0,5 µg/L.

Suivant les auteurs, la quantité de molybdène absorbée par l'alimentation varie de 100 à 1 000 µg/j. Les denrées alimentaires qui en contiennent le plus sont les légumes, les céréales, le foie ; la quantité introduite dans l'organisme par l'alimentation est largement supérieure à celle ingérée par l'eau de boisson. Ce métal n'a pas été signalé comme ayant donné lieu à des intoxications d'origine hydrique. Bien que considéré comme essentiel chez l'homme, la physiopathologie du molybdène est méconnue, il est cependant admis que sa toxicité est faible. Ce métal est un composant essentiel de nombreuses enzymes. Dans l'organisme, il joue un rôle important dans certaines réactions d'oxydation ou de réduction.

Le molybdène est surtout connu pour son rôle dans le développement des végétaux. Certains fourrages cultivés dans des zones riches en molybdène ont pu conduire à des intoxications du bétail (Canada) ; ces troubles constitués surtout par des diarrhées sévères, quelquefois mortelles, peuvent être évités par absorption de cuivre. Par contre, la carence des sols en molybdène entraîne une accumulation des nitrates dans les plantes.

L'OMS recommande pour l'eau destinée à la consommation humaine une valeur guide de 0,07 mg/L ; les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française ne fixent aucune valeur.

Nickel

D'une façon générale, les sols riches en silice ont une teneur en nickel moins élevée que les sols pauvres en silice ; les terres cultivables ont des teneurs variant de 0,003 à 1 %. Les minerais sont des silicates hydratés de magnésium et de nickel, et des pyrites (sulfure de fer, de nickel et de cuivre). Le nickel entre dans de nombreux alliages en raison de ses caractéristiques de dureté et de résistance à la corrosion. Il est aussi utilisé pour la protection des pièces métalliques et dans le traitement avant chromage. Associé au cadmium, il entre dans la fabrication d'éléments de batteries. Il sert à la fabrication d'ustensiles de cuisine. Son emploi comme catalyseur dans l'industrie chimique est important.

Dans les pollutions d'origine industrielle, on le retrouve généralement associé aux cyanures, au mercure, à l'arsenic, au chrome, etc. Dans l'industrie, les accidents pulmonaires sont surtout liés à l'inhalation de nickel carbonyle. Il est reconnu que le nickel et le nickel carbonyle sont susceptibles d'accroître les risques de cancers des voies respiratoires, en particulier dans les fonderies au cours des opérations de polissage. Il est cependant difficile de séparer l'action du nickel et celle d'éléments associés comme l'arsenic et le chrome. Expérimentalement, il n'apparaît pas que le nickel et ses composés aient une action carcinogène lorsqu'ils sont administrés par voie digestive. La littérature scientifique ne donne que peu d'informations sur l'action mutagène et tératogène des composés du nickel sauf avec des doses élevées. Le nickel tend à devenir un allergène sur le plan cutané et digestif ; s'il ne semble pas déclencher l'allergie, il contribue très probablement à entretenir les poussées.

Le fait que le nickel ne soit généralement pas retrouvé dans les eaux souterraines ou en quantités très faibles indique que la présence de ce métal est principalement liée aux activités humaines. Les quantités retrouvées dans les eaux de surface varient de quelques microgrammes à 100 μg/L (cf. § A-7.37). L'eau de mer en contient de 0,1 à 0,5 μg/L.

La quantité absorbée journellement par l'alimentation varie de 100 à 500 μg. En dehors de sa présence dans les aliments, le nickel peut provenir des ustensiles de cuisine, des conserves, etc. La quantité ingérée avec l'eau est estimée entre 10 et 20 μg/j. L'absorption digestive est faible (10 % de la quantité ingérée), l'élimination se fait par voie fécale et urinaire. Le nickel et ses sels sauf le nickel carbonyle sont relativement peu toxiques par voie digestive ; de ce fait, le nickel d'origine alimentaire ne pose pas de problème pour la santé publique.

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 20 μg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent également une valeur limite de 20 μg/L. Compte tenu de ce qui a été développé ci-dessus et de

la faible quantité de nickel ingérée avec l'eau, des teneurs de 200 μg/L ne devraient pas poser des problèmes d'hygiène publique.

Le contrôle du nickel de l'eau est particulièrement important dans les centrales thermiques pour suivre la corrosion des installations. Il faut aussi se rappeler que le nickel est également susceptible de provoquer des corrosions dans les circuits de distribution.

Nitrates

Toutes les formes d'azote (azote organique, ammoniaque, nitrites, etc.) sont susceptibles d'être à l'origine des nitrates par un processus d'oxydation biologique. Dans les eaux naturelles non polluées, le taux de nitrates est très variable suivant la saison et l'origine des eaux ; il peut varier de 1 à 15 mg/L et une concentration de 2 ou 3 mg/L peut être considérée comme normale (cf. § A-7.38). À l'origine du cours d'eau, la teneur en nitrates est très souvent comprise entre 0,05 et 0,2 mg/L, puis elle s'élève progressivement jusqu'à quelques mg/L le long du parcours au fur et à mesure que croît la distance aux sources. Sauf cas particuliers, les teneurs en nitrates des eaux des réseaux de distribution sont peu élevées ; par contre, en zone rurale, certains puits à usage familial peuvent avoir des concentrations importantes. Depuis quelques décennies, il a été observé une élévation lente mais inexorable et sans amorce de stabilisation de la teneur en nitrates des eaux souterraines et superficielles de certaines régions ; celle-ci est souvent liée au développement des élevages, à une fertilisation excessive des zones agricoles par les engrais, les fientes et fumiers divers, voire les boues de stations d'épuration. La migration des nitrates est nettement plus rapide sur les surfaces cultivables laissées nues pendant l'hiver. Les rejets des collectivités et occasionnellement de certaines industries (engrais, explosifs, oxydants) peuvent aussi concourir à l'enrichissement en nitrates des eaux superficielles. L'accroissement, particulièrement significatif dans certaines nappes, varie en raison inverse de la profondeur. Les eaux météoriques contiennent aussi des nitrates en provenance de l'ammoniaque et des oxydes d'azote présents dans l'atmosphère, dont une partie est liée à la combustion des produits fossiles (charbon, fuel) et à l'utilisation des hydrocarbures.

L'accroissement de la pollution atmosphérique contribue à une augmentation de l'apport des composés azotés au sol qui est actuellement de l'ordre de 17 kg d'azote par hectare et par an. Les nitrates participent aux phénomènes d'eutrophisation (*voir* Phosphore) ; en période de faible oxygénation (période estivale) les nitrates peuvent jouer le rôle de donneurs d'oxygène et éviter l'anaérobiose. En ce qui concerne les eaux destinées à la consommation humaine, en France, environ 2 % de la population consomme une eau dont la teneur moyenne en nitrates dépasse 50 mg/L (NO_3^-). Plus des trois quarts de la population concernée se situent dans une quinzaine de départements du Nord, et de l'Ouest, dans les régions Nord, Picardie, Bretagne, Ile-de-France, Pays de la Loire, Centre et Poitou-Charentes. Les distributions rurales sont proportionnellement plus atteintes que les réseaux urbains. Dans 90 % des cas, les eaux contaminées sont des eaux souterraines générale-

ment en provenance de nappes de faible puissance situées dans des zones de cultures maraîchères ; la pollution peut aussi se développer dans des grandes nappes situées dans des régions de cultures intensives.

Les nitrates ont une toxicité indirecte par le fait qu'ils se transforment en nitrites ; en ce qui concerne la toxicité à long terme, les enquêtes épidémiologiques, statistiquement valables ne font pas apparaître de phénomènes de cancérogénèse avec ces deux types de sels. Aux États-Unis et en Europe, il a été reconnu que l'eau chargée en nitrates employée pour la préparation des biberons de lait en poudre était susceptible de faire apparaître chez les nourrissons une cyanose liée à la formation de méthémoglobine. Cette intoxication, provoquée par l'absorption de petites doses de nitrates, est en réalité due aux nitrites formés par réduction des nitrates sous l'influence d'une action bactérienne. Cette réduction ne se produit pas chez l'enfant et chez l'adulte car elle est contrôlée par l'acidité du suc gastrique. Par contre, dans l'estomac du nourrisson, le liquide gastrique, insuffisamment acide (le pH pouvant s'élever facilement au-delà de 4 ou 5) surtout chez les sujets diarrhéiques, permet la prolifération de bactéries réductrices de nitrates en nitrites ; ceux-ci diffusent dans la circulation générale et sont alors responsables de la formation de méthémoglobine qui résulte de l'oxydation réversible du fer ferreux de l'hémoglobine en fer ferrique. Lorsque la quantité formée dépasse la réduction physiologique normale produite par la diaphorase, la fixation de l'oxygène et son transport par l'hémoglobine est diminuée et se traduit par une anoxie dont l'importance est fonction de la quantité de méthémoglobine formée.

Chez l'enfant, la dose journalière de nitrates susceptible de développer un taux de 10 % de méthémoglobine (impliquant des risques de cyanose) serait de 10 à 15 mg de nitrates par kilogramme de poids corporel. Dans la pratique, il a été observé que 96 % des cas de méthémoglobinémie se sont produits lors de l'utilisation d'eaux contenant plus de 50 mg/L de nitrates (en NO_3^-) provenant le plus souvent de puits. Toutefois, les intoxications de ce type n'ont pas un caractère systématique ; ainsi, notre expérience nous a mis en présence d'eaux contenant des nitrates à concentrations relativement élevées et utilisées sans qu'aucun accident ne soit signalé. Au Royaume-Uni, le taux de 100 mg/L exprimé en NO_3^- est assez fréquemment dépassé sans que les enquêtes épidémiologiques aient mis en évidence une altération de la santé des populations. Au Yemen où l'on peut rencontrer des eaux atteignant 400 mg/L en NO_3^- , aucun accident n'est relaté mais il est vrai que les enfants sont généralement nourris au sein ce qui n'est pas le cas en Australie où aucune affection n'a été notée avec des eaux contenant de 50 à 200 mg/L en NO_3^- (région de Perth). L'action toxique ne peut donc être considérée comme générale et il semble exister, en dehors des nitrates, certains facteurs se surajoutant ou prédisposant les enfants à des accidents. La susceptibilité des nourrissons à l'intoxication peut s'expliquer par la quantité de liquide absorbée par rapport à leur poids (trois fois plus importante que l'adulte), par le développement encore insuffisant de l'acidité gastrique qui limite la prolifération microbienne génératrice d'enzymes susceptibles de réduire les nitrates, par la présence d'hémoglobine fœtale donnant plus facilement de la méthémoglobine que l'hémoglobine A, par une diminution de l'activité de l'enzyme NADH-méthémoglobine réductase, responsable de la réduction de la méthémo-

globine, par le fait que la mère a absorbé régulièrement des eaux à teneur élevée en nitrates. Il a été aussi signalé que chez la femme enceinte l'hémoglobine aurait tendance à s'oxyder en méthémoglobine, cette situation s'estompant après la parturition. L'alimentation se trouve être à l'origine de nombreux cas de méthémoglobinémie : consommation d'épinards, de soupes de carottes, d'aliments préparés à l'avance. La réglementation française précise que la concentration en nitrates ne doit pas dépasser 5 mg pour cent grammes dans les produits destinés à l'alimentation infantile. Une enquête a montré que cette teneur était dépassée dans 80 % des échantillons analysés. D'une façon générale, certains légumes (céleris, épinards, carottes, bettes, radis) ont des teneurs élevées en nitrates allant de 100 à 2 000 mg/kg, plus particulièrement les légumes fertilisés avec du fumier naturel (taux élevé en nitrites) ; par ailleurs, il a été noté que certaines pollutions bactériennes peuvent transformer les nitrates en nitrites, même dans les aliments conservés au réfrigérateur.

L'accumulation préférentielle de nitrates dans certains végétaux est liée au fait que la vitesse d'absorption est supérieure à la vitesse de transformation en acides aminés, amides, protéines, sous l'action des réductases.

L'apport alimentaire chez l'homme varie suivant les régions et les habitudes des consommateurs. Les estimations vont de 100 à 300 mg/j, 70 % étant apportés par les légumes, les 30 % restants se répartissant de façon sensiblement équivalente entre l'eau et les salaisons. L'addition de nitrate de sodium dans la charcuterie est une habitude très ancienne confirmée par la réglementation qui pour les saumures et à l'exclusion des viandes fraîches autorise l'emploi de nitrate de sodium et de potassium ainsi que de nitrites à une dose ne dépassant pas 0,150 g par kg. En dehors de la formation de pigments nitrosés (avec l'hémoglobine et la myoglobine) agréables à l'œil, ces produits ont des propriétés antibactériennes majeures contre le *Clostridium botulinum* et les staphylocoques. L'absorption des nitrates dans l'organisme se fait en particulier dans l'intestin grêle, et l'élimination est principalement rénale. À partir du plasma, les nitrates se concentrent dans la salive par l'intermédiaire des glandes salivaires. La quantité journalière ainsi secrétée est de l'ordre de 30 % de la quantité absorbée par l'alimentation ; une partie est réduite en nitrites. Selon le rapport de la FAO/OMS (1974), la dose journalière admissible pour un homme de 70 kg serait de 350 mg de nitrate de sodium, et de 14 mg de nitrite de sodium. En raison des inconvénients qui résulteraient d'un arrêt de la distribution d'eau, la consommation d'une eau contenant entre 50 et 100 mg/L de nitrates peut être tolérée, sauf pour les femmes enceintes et les nourrissons de moins de six mois. Au-delà de 100 mg/L, la consommation doit être interdite.

L'OMS recommande pour les eaux destinées à la consommation humaine une valeur limite de 50 mg/L (NO_3^-) et précise qu'il doit être tenu compte aussi de la concentration en nitrites de telle façon que la somme des rapports des concentrations (en nitrates et nitrites) par rapport à leurs valeurs guides respectives doit être inférieure à 1. Les directives du Conseil des communautés européennes indiquent comme niveau guide 25 mg/L et comme concentration maximale admissible 50 mg/L (NO_3^-). La réglementation française a retenu cette même valeur limite de 50 mg/L. De plus, la somme des concentrations en nitrates divisée par 50 et de celle en nitrites, divisée par 3, doit rester inférieure à 1. Des dispositions particulières sur la

conduite à tenir et les possibilités de dérogation sont précisées concernant les teneurs en nitrates dans les eaux destinées à la consommation humaine. L'absorption excessive de nitrates constituerait un facteur goitrigène supplémentaire chez les sujets modérément carencés en iode.

Il a été signalé que l'utilisation de l'eau riche en nitrates dans des élevages de poulets, de porcs, de veaux avait conduit à des mortalités importantes par formation de méthémoglobine.

Dans la fabrication de la bière, les processus de fermentation peuvent être modifiés (formation de nitrites) et la dégénérescence de la levure se développer avec des eaux contenant plus de 50 mg/L de nitrates.

Les possibilités de prévention de la pollution des eaux par les nitrates résident :

– dans une meilleure maîtrise de la fertilisation avec réadaptation de certaines pratiques agricoles ;

– dans la limitation des rejets insuffisamment contrôlés, d'eaux usées et de résidus divers ;

– dans le renforcement des périmètres de protection.

En dehors de l'amélioration de la qualité par la dilution avec des eaux de meilleure qualité par interconnection de réseau, il apparaît souvent que l'on est conduit à rechercher une autre ressource.

Les méthodes d'élimination des nitrates en excès sont techniquement au point, mais les prix de revient élevés en ont jusqu'ici limité le développement. Si l'osmose inverse, les résines échangeuses d'ions sont susceptibles d'être utilisées, ce sont surtout les méthodes de dénitrification biologique qui sont actuellement considérées avec faveur. Dans ces méthodes, les nitrates constituent une source d'oxygène pour le développement bactérien, la multiplication des bactéries nécessite alors, dans les procédés hétérotrophiques, l'apport extérieur d'un substrat carboné (acide acétique ou alcool éthylique) ou, dans les procédés autotrophiques, le passage sur un support soufré qui par oxydation libère l'azote et donne des sulfates. Les procédés biologiques présentent l'avantage d'éliminer les nitrates alors qu'avec les procédés physico-chimiques, ceux-ci se retrouvent dans les rejets.

Voir aussi Nitrites nitrosamines.

Nitrilotriacétate de sodium (NTA)

Les phosphates constituent un élément important pour augmenter les performances des détergents dont on connaît l'action néfaste sur les modifications de l'équilibre écologique des eaux de surface. Pour limiter ces inconvénients, on utilise du nitrilotriacétate de sodium (NTA), à des pourcentages pouvant atteindre 15 % du détergent. L'acide nitrilotriacétique n'est pas soluble dans l'eau alors que son sel tribasique l'est complètement (cf. § A-10.11). Sa dégradation n'étant pas totale dans les stations d'épuration, le NTA peut se retrouver dans l'environnement. Il s'utilise aussi dans le traitement des eaux de chaudières. Il se retrouve dans les eaux à une concentration de quelques µg/L. Ce produit (utilisé en Norvège et au Canada) ayant fait l'objet de critiques en raison d'une éventuelle nocivité

sur le milieu, son interdiction serait envisagée dans certains pays et des industriels ont d'ailleurs cessé volontairement de l'utiliser. La critique principale porte sur l'accroissement éventuel de la toxicité par complexation de certains métaux lourds (plomb, cadmium, mercure, etc.), développant une action toxique sur l'embryon et le fœtus, ainsi que des effets tératogènes. Cependant, des études expérimentales récentes ont montré que l'administration de NTA parallèlement à l'ingestion de méthylmercure ou de cadmium, entraînait une diminution de la toxicité de ces métaux et ne s'accompagnait pas d'une action tératogène. Il ne semble pas que le NTA soit génotoxique et qu'il entraîne la formation de tumeurs même après une exposition prolongée. L'OMS indique pour l'eau destinée à la consommation humaine une valeur guide de 200 µg/L.

Nitrites

En l'absence de pollution, il n'y a pas ou très peu de nitrites dans les eaux et dans les zones où l'auto-épuration est active ; les teneurs se maintiennent à des niveaux très faibles (de l'ordre de 0,01 mg/L). En dessous d'un centième de mg/L, les eaux peuvent être considérées comme pures ou se trouvant sous l'action d'une auto-épuration active, en présence de quelques dizièmes de mg/L la pollution est sensible, celle-ci devient significative au-delà de 1 mg/L (cf. § A-7.39).

En France, très peu d'unités de distribution desservant plus de 10 000 habitants (moins de 1 %) distribuent une eau dont la teneur moyenne en nitrites est supérieure ou égale à 0,1 mg/L.

Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, la nitrification n'étant pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante. Une eau qui renferme des nitrites est à considérer comme suspecte car lui est souvent associée une détérioration de la qualité microbiologique.

Cependant, pour l'interprétation définitive des résultats, il sera nécessaire de tenir compte des teneurs en nitrates, en azote ammoniacal, en matières organiques et de l'examen bactériologique. Il est important de signaler que les eaux en contact avec certains terrains et certaines conduites peuvent contenir des nitrites indépendamment de toute souillure. On trouve aussi quelquefois des nitrites non liés à une pollution dans les eaux pauvres en oxygène (sondages profonds...). Leur présence a été signalée dans les eaux de pluie et dans les eaux provenant de la fonte des neiges du fait de la pollution atmosphérique par les oxydes d'azote. Les nitrites sont aussi susceptibles de se former sous l'action de bactéries et à des températures élevées à partir des chloramines créées au cours de la désinfection par réaction sur l'ammoniaque. Il a été aussi observé que la teneur en nitrites de l'eau stockée à des températures de l'ordre de 40 °C pouvait s'élever probablement sous l'influence d'une action microbienne. Leur emploi comme inhibiteur de corrosion dans les stations de traitement des eaux peut aussi conduire à des erreurs d'interprétation. Il a été constaté en Allemagne que l'oxydation de l'essence dans le sol peut utiliser, en dehors

de l'oxygène libre, de l'oxygène emprunté aux nitrates qui sont alors transformés en nitrites.

L'apport alimentaire quotidien varie entre 2 et 5 mg/j dont 93 % provient des salaisons (la teneur maximale réglementaire est 150 mg/kg) ; l'apport par l'eau est pratiquement nul.

Du point de vue de la toxicité qui est très significative en raison de leur pouvoir oxydant, il faut retenir que les nitrites peuvent avoir une action méthémoglobinisante comme cela est indiqué à propos des nitrates. La salive contiendrait de 6 à 15 mg/L de nitrites ; par ailleurs, ceux-ci inhiberaient l'activité biologique de certaines vitamines (A, E, B6...). Ils sont aussi considérés comme des agents mutagènes potentiels : les nitrites étant principalement mutagènes vis-à-vis des organismes inférieurs et les dérivés N-nitrosés l'étant même à faibles doses sur les mammifères. Il semblerait que certains types de cancers (voies digestives supérieures, foie) peuvent avoir pour origine la présence de nitrosamines dans l'alimentation. L'origine de ces produits peut être exogène (végétaux, alcools, produits de synthèse, cigarettes) ou endogène (formation *in vivo* à partir d'amines). Dans ce dernier cas, leur formation dans l'organisme se fait à partir des amines secondaires qui se trouvent dans l'alimentation (poissons, conserves, etc.) ou qui peuvent être métabolisées à partir des substances chimiques de synthèse (médicaments, protéides, etc.). La biogénèse des nitrosamines dans l'organisme est difficile car le passage de nitrates aux nitrites nécessite un $pH > 5$ alors que la réaction des nitrites sur les amines secondaires demanderait en principe, pour une formation significative, un $pH < 3$. Certaines affections peuvent cependant établir des conditions favorables à la biosynthèse des nitrosamines.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide provisoire de 3 mg/L (NO_2^-) et précise qu'il doit être tenu compte aussi de la concentration en nitrates de telle façon que la somme des rapports des concentrations (en nitrites et nitrates) par rapport à leurs valeurs guides respectives doit être inférieure à 1.

Les nitrites pouvant apparaître comme sous-produits lors de la chloration de l'eau, cette disposition permet de maintenir la chloration tout en garantissant un niveau adéquat de protection pour les consommateurs.

Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquent une valeur limite de 0,5 mg/L. De plus, la somme de la concentration en nitrites divisée par 3 et de celle en nitrates divisée par 50 doit rester inférieure à 1.

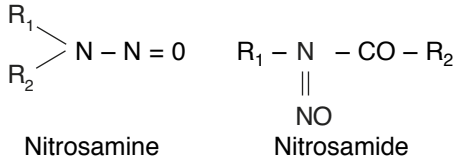
Au cours de la décontamination microbienne de l'eau, 0,1 mg/L de NO_2 en N détruit presque immédiatement 0,5 mg/L de chlore libre. La présence de nitrites présente des inconvénients pour le traitement de la laine et de la soie, ainsi que pour la fabrication de la bière.

Voir aussi Nitrates, Nitrosamines.

Nitrosamines, nitrosamides (composés N-nitrosés)

Certaines nitrosamines ont été utilisées dans l'industrie comme antioxydants, accélérateurs, agents d'activation et dans certaines synthèses organiques (cf. § A-10.21).

Théoriquement, les composés N-nitrosés sont susceptibles de se former par réaction de divers composés azotés (amines, aminoacides, ammonium quaternaire, etc.) avec les nitrites. Suivant les cas, on aura formation de nitrosamines ou de nitrosamides. Ces produits ont pour forme générale :



dans laquelle les radicaux R_1 et R_2 peuvent être aromatiques ou aliphatiques. Lorsque la concentration en oxygène s'élève, leur volatilité décroît. Les diméthyl et diéthylnitrosamines sont les seules à être solubles à la fois dans l'eau et dans les solvants organiques. La lumière et les ultraviolets les décomposent en amines secondaires et en acides nitreux. Le pouvoir cancérogène des nitrosamines a été mis en évidence par Magee et Barnes (1956). D'un point de vue expérimental, l'organe cible varie en fonction de la nature des radicaux aliphatiques ou cycliques substituant la fonction N-nitrosée, de la dose utilisée et du temps d'exposition ; suivant les cas, on aura des cancers du rein, du foie, de l'œsophage, ou de l'estomac. Environ cent composés N-nitrosés se révèlent être cancérogènes chez l'animal ; cependant, certaines nitrosamines n'ont pas cette action soit parce qu'elles ne peuvent s'oxyder en α, soit parce qu'elles s'oxydent trop facilement. Si l'on attribue à la présence des nitrosamines un rôle dans la recrudescence de certains cancers, on connaît mal la dose-seuil qui entraîne le déclenchement de la carcinogénèse ; toutefois, actuellement aucune enquête épidémiologique sérieuse et satisfaisante n'a confirmé cette hypothèse chez l'homme. L'action toxique des nitrosamines est en relation avec leur structure et particulièrement avec leur aptitude à former, suivant un processus enzymatique, des métabolites stables qui pourraient jouer le rôle d'agents alkylants. Les nitrosamines sont susceptibles de se retrouver dans les aliments (poisson, légumes, conserves, alcools distillés), de se former à partir de précurseurs (pesticides, choline, bétaïne, créatinine, triméthylamine, acide nitrilotriacétique, etc.). Certains médicaments qui sont des sources d'amines peuvent être aussi des précurseurs de nitrosamines : l'aminophénazone (un analgésique), l'oxytétracycline (un antibiotique), le disulfirame (employé pour le traitement des alcooliques), etc.

Théoriquement, les nitrosamines peuvent se former dans l'organisme à partir des nitrites et des amines secondaires. Les nitrites se retrouvent dans beaucoup d'aliments (épinards, céleris, certaines charcuteries), mais leur présence dans l'organisme est surtout due à la réduction des nitrates ; cependant, celle-ci ne peut s'effectuer normalement qu'à un $pH > 5$ et d'autre part la biosynthèse des nitrosamines ne se ferait qu'à $pH < 3$.

C'est seulement dans l'estomac que l'on pourra trouver un *p*H acide, mais à ce niveau-là, la biodégradation des nitrates en nitrites n'est pas encore réalisée. En fait, si les différents constituants de la chaîne susceptibles de conduire chez l'homme aux nitrosamines ont bien été mis en évidence, il n'est pas prouvé que l'ensemble des réactions soit susceptible de se développer sans l'influence de facteurs internes ou externes. La formation des nitrosamines chez l'homme n'a actuellement qu'un caractère potentiel. Certains produits comme la vitamine C seraient susceptibles de jouer un rôle inhibiteur dans la formation des nitrosamines.

Dans les eaux de surface (lacs en particulier) et en milieu acide, il a pu être noté l'apparition de nitrosamines en présence de diméthylamine et de nitrites en quantité importante. Dans les eaux d'égouts, bien que les conditions de formation des nitrosamines semblent réunies avec la présence de diméthylamine et de nitrites, leur apparition est contrariée par la métabolisation bactérienne des précurseurs aminés.

Il est peu vraisemblable que l'eau constitue un vecteur significatif pour l'apport alimentaire de composés N-nitrosés. Cependant, elle peut jouer un rôle important par l'apport de composés précurseurs facilitant leur formation dans l'organisme.

Voir aussi Nitrites, Nitrates.

Odeur

Le test de l'odeur (cf. § A-2.2) ne constitue pas une mesure mais une appréciation et celle-ci a donc un caractère personnel ; cette subjectivité ne peut être compensée que par la rigueur des essais et le nombre des expérimentateurs. Le test de l'olfaction est plus sensible et plus précis que celui de la dégustation, mais il ne permet pas d'apprécier des variations de moins de 30 % des teneurs des substances ayant une odeur. Il présente sur le test de saveur l'avantage de pouvoir être pratiqué sur l'eau brute et d'être moins fatiguant à pratiquer pour les opérateurs.

L'eau potable doit être sans odeur, non seulement au moment du prélèvement, mais encore après une période de 10 jours en vase clos à la température de 26 °C. Les odeurs proviennent, soit des produits chimiques, soit de matières organiques en décomposition, soit de protozoaires, soit d'organismes aquatiques. Il a été confirmé que les algues planctoniques en période de floraison peuvent être à l'origine d'odeurs associées à des goûts et même à des phénomènes toxiques. Une des substances principalement responsable de ces odeurs serait la trans-1,10-diméthyl-trans-9-décalol ou géosmine, émise par les actinomycètes du genre *Streptomyces* mais aussi *Nocardia, Micromonospora, Microbispora* : elle développe des goûts et odeurs particulières de terre et de moisi. À partir des actinomycètes, un autre métabolite dont la structure approche celle du camphre, le 2-méthylisobornéol (2-MIB), a été identifié ; d'autres métabolites tels cadine-4-ène-1-ol, furfural sont aussi secrétés. Ces produits peuvent avoir des interactions en particulier dans les matières organiques préexistantes. Certaines Cyanophycées (*Oscillatoria, Anabaena, Aphanizomenon, Microcystis* etc.) sont susceptibles de produire les mêmes métabolites ainsi que des n-hexa-

nal, n-heptanal et différents esters, aldéhydes, cétones, mercaptans, etc. Le n-hexanal et le n-heptanal sont à l'origine de l'odeur de poisson liée au développement de *Synura petersenii* et *Synedra rumpens.* Certaines eaux ont une odeur d'hydrogène sulfuré qui peut disparaître assez vite après un contact avec l'air. Les eaux de citernes sont souvent malodorantes.

L'odeur due à la présence simultanée dans l'eau de plusieurs produits peut être plus intense que la somme des odeurs dues à chaque constituant. Cette synergie des odeurs se remarque particulièrement lors de la chloration des substances phénoliques ou d'autres produits. La présence d'une odeur désagréable se détermine bien par différence après passage sur du charbon. Si certains micropolluants peuvent être associés à des modifications des caractères organoleptiques, il ne peut être retenu que l'absence ou la présence d'odeurs ou de saveurs désagréables constituent une certitude de leur absence ou de leur présence.

À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine indiquaient pour l'odeur un taux de dilution égal à zéro comme niveau guide et un taux de dilution maximal admissible de 2 à 12 °C et de 3 à 25 °C ; elles précisaient que les résultats devaient être rapprochés des déterminations gustatives. L'ancienne réglementation française précisait que l'eau ne devait pas présenter d'odeur pour un taux de dilution de 2 à 12 °C et de 3 à 25 °C. Les réglementations actuelles comme l'OMS recommandent que l'eau ne soit pas considérée comme inacceptable par une majorité de consommateurs.

Or

L'or étant extrêmement insoluble, il n'est présent qu'à l'état de traces dans les eaux naturelles et principalement dans les zones à minéralisation particulière (< 1 µg/L). Les eaux issues des unités de traitement des minerais peuvent contenir des teneurs plus élevées.

Organochlorés volatils (haloformes, halométhanes)

Ces dernières décennies, les dérivés organiques chlorés volatils présents dans l'eau (cf. § A-10.17) ont fait l'objet de nombreuses études, en particulier aux États-Unis où leur rôle avait été évoqué dans l'incidence du cancer de la vessie à la Nouvelle-Orléans. Les composés liés au traitement de l'eau les plus souvent identifiés dans les eaux potables sont les trihalométhanes : chloroforme ($CHCl_3$), bromodichlorométhane ($CHBrCl_2$), chlorodibromométhane ($CHBr_2Cl$), chlorobromométhane (CH_2ClBr), bromoforme ($CHBr_3$) ; en outre, ont été également signalés, liés à des rejets accidentels ou non (activités industrielles, domestiques ou agricoles), le tétrachlorure de carbone (CCl_4), le trichloréthylène ($CHCl = CCl_2$) et le dichloroéthane ($CH_2Cl - CH_2Cl$). D'une façon générale, ces produits ont un caractère rémanent et leur solubilité dans l'eau est variable. Les haloformes qui appa-

raissent au cours de la chloration de l'eau résultent principalement de la fixation d'atomes de chlore sur des polyphénols, des dicétones, des radicaux acétyls et surtout pour les matières organiques naturelles qui incluent ces fonctions chimiques dans leur structure (substances humiques notamment). Tous ces composés constituent des « précurseurs » (cf. § A-13.1 et A-13.2). Il semble que l'ensemble de la biomasse algale soit susceptible de développer des haloformes après chloration, d'où la difficulté d'utiliser la préchloration pour éliminer certains types d'algues alors que l'on sait que la préchloration engendre des produits indésirables. Par contre, le tétrachlorure de carbone proviendrait d'une pollution industrielle ou serait lié à une impureté du chlore. La formation d'haloformes, qui dépend essentiellement de la présence des composés précurseurs et de chlore à l'état libre, est fonction de la température, du *p*H et du temps de contact. Les eaux de nappes bien protégées ne contiennent généralement pas de « composés précurseurs » : il n'en est pas de même pour les eaux de surface ou celles de nappes alluviales. L'apparition d'haloformes dans ces eaux après leur traitement correspond à une insuffisance de leur prétraitement. Aux États-Unis, les concentrations en chloroforme de l'eau potable varient de 0,1 à 300 μg/L. En France, les résultats analytiques font généralement état de 10 à 20 μg/L sauf à une époque où la pré-chloration était encore pratiquée.

D'une façon générale, l'intoxication par ces produits se caractérise par une hépato-toxicité liée à la formation de métabolites réactifs (radicaux libres, époxydes, etc.).

Les études expérimentales font apparaître que certains composés organochlorés sont susceptibles d'induire l'apparition de cancers par voie digestive chez l'animal. Si le chloroforme est considéré comme cancérogène, par contre, il n'est pas mutagène alors que les composés bromés le sont tous. La corrélation entre les cancers humains et la présence des haloformes dans l'eau de boisson fait l'objet d'études statistiques controversées ; il est donc actuellement délicat de préciser l'importance du problème. De même, en l'absence de connaissance sur la relation « dose-effet », il est difficile d'évaluer les risques encourus par la population.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande comme valeur guide 2 μg/L pour le tétrachlorure de carbone, 100 μg/L pour le bromoforme et le chlorodibromométhane, 60 μg/L pour le bromodichlorométhane et 200 μg/L pour le chloroforme. Ces deux dernières valeurs tiennent compte d'un accroissement d'un risque de cancer pour 10^5 individus. En ce qui concerne les trihalométhanes, l'OMS préconise que la somme des rapports de concentration de chacun d'eux (C) par rapport à leur valeur guide respective (VG) ne doit pas excéder 1, c'est-à-dire :

$$\sum \frac{C}{VG} \leqslant 1$$

À titre indicatifs, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient pour les composés organochlorés autres que les pesticides et produits apparentés un niveau guide de 1 μg/L et précisaient que la concentration en haloformes devait être réduite dans toute la mesure du possible.

Les réglementations actuelles (européenne et française) incluent trois paramètres dans les limites de qualité. La somme des concentrations en tétrachloro-éthylène, trichloro-éthylène doit être inférieure à 10 µg/L. La somme des concentrations des quatre trihalométhanes doit être la plus faible possible, sans pour autant compromettre la désinfection. La valeur de 100 µg/L pour cette somme est la limite de qualité à ne pas dépasser (depuis décembre 2008).

Du point de vue de l'hygiène publique, il semble prématuré de jeter le discrédit sur l'emploi du chlore comme désinfectant car cet halogène a rendu d'énormes services dans la lutte contre les maladies infectieuses d'origine hydrique. La réduction des composés dits précurseurs dans la formation des haloformes est possible avec des traitements appropriés : floculation, filtration lente sur sable, absorption sur charbon actif... Les traitements habituels de floculation et d'adsorption sur charbon actif semblent pratiquement sans effet sur les halométhanes déjà formés. Il faut aussi noter que le dioxyde de chlore ne donnerait pas lieu à la formation d'halométhanes.

Voir aussi Hydrocarbures chlorés aliphatiques.

Oxydabilité au permanganate ou indice permanganate (IP)

Réalisé en milieu acide et à l'ébullition pendant 10 minutes, ce test permet d'évaluer la quantité de matières organiques oxydables présentes dans l'eau, les résultats étant exprimés en milligrammes d'oxygène par litre d'eau (cf. § A-9.1). Les valeurs obtenues peuvent être utilement comparées à celles du carbone organique total, le rapport IP/COD étant souvent de l'ordre de 1 à 2 mg O_2/mg C pour les eaux brutes, alors qu'il est inférieur à 1 pour les eaux traitées. Ce test a en fait un caractère qualitatif ; son interprétation doit être associée à d'autres caractéristiques chimiques de la pollution comme la teneur en carbone organique, la présence d'ammoniaque, d'ions ammonium, de nitrites, etc. La valeur de ce test qui constitue une des plus anciennes déterminations en hydrologie a été souvent discutée. De nombreuses molécules organiques présentes dans les eaux sont , en effet, mal quantifiées par cette méthode, car peu oxydées dans les conditions du test.
Les résultats peuvent également être modifiés par d'autres substances réductrices, telles que les sulfures, les nitrites, le fer ferreux... ou subir l'interférence des ions chlorure surtout si leur teneur est élevée.

Il a été estimé que les matières organiques d'origine animale s'oxydaient plus facilement en milieu alcalin tandis que celles d'origine végétale l'étaient plutôt en milieu acide. Cependant, cette interprétation est discutable en raison de la complexité des phénomènes d'oxydation et de réduction sur les molécules organiques. Les eaux superficielles peu polluées présentent généralement une oxydabilité inférieure à 1 mg/L. Au-delà de 2 mg/L, on peut considérer que, sauf dans le cas des ruisseaux à substrat humique, une eau de rivière présente des traces de pollution qui peuvent se traduire par une oxydabilité dépassant parfois 10 mg/L. En pratique, les enquêtes montrent que les eaux souterraines ont généralement une faible oxydabilité

(quelques milligrammes par litre). Certaines eaux artésiennes, les eaux des régions tourbeuses et chargées d'humus ont des teneurs en matières organiques assez élevées (10 à 15 mg/L) tout en ne présentant pas de risque pour la santé.

Pour l'interprétation des résultats, une teneur élevée en matières organiques devra toujours faire suspecter une contamination microbienne.

La réglementation actuelle (européenne et française) fixe une référence de qualité de 5 mg/L pour l'oxydabilité au permanganate. Ce paramètre doit être recherché lorsque le COT ne peut pas être analysé afin de permettre le contrôle du fonctionnement des installations de production d'eau potable.

Voir aussi Carbone organique total, DBO_5, DCO, Matières organiques.

Oxygène dissous

L'oxygène, toujours présent dans l'eau, n'en est pas un élément constitutif. Sa solubilité est fonction de la température, de la pression partielle dans l'atmosphère et de la salinité (cf. A-4.3). L'oxygène dissous conserve ses propriétés oxydantes, soit par une réaction purement chimique en oxydant des composés minéraux (Fe^{2+}, NH_4^+, NO_2^-…) ou organiques, soit par des phénomènes biochimiques (consommation de l'oxygène par les microorganismes pour assurer la dégradation des constituants de l'eau), soit encore par des réactions électrochimiques.

La teneur de l'oxygène dans l'eau est fonction de l'origine de l'eau : les eaux superficielles peuvent en contenir des quantités relativement importantes proches de la saturation ; par contre, les eaux profondes n'en contiennent le plus souvent que quelques milligrammes par litre.

La concentration en oxygène dissous pourra être exprimée par le taux de saturation (en %) en rapportant la valeur mesurée à la température de l'eau à la concentration théorique en oxygène dissous dans l'eau saturée en air humide à la même température t et à la même pression (voir tables et nomogrammes au § A.4.3.3).

Des teneurs inférieures à 80 % de la saturation peuvent entraîner une altération organoleptique de l'eau. L'eau saturée d'air, à 20 °C et sous la pression normale contient 9,1 mg/L d'oxygène.

Les variations de la teneur en oxygène sont aussi importantes que la valeur du taux absolu. On devra rechercher la cause de toute variation ; celle-ci pouvant être fonction de la présence des végétaux et des phénomènes de photosynthèse, des matières organiques oxydables, des organismes et des germes aérobies, ainsi que de la perturbation des échanges atmosphériques à l'interface (présence de graisses, d'hydrocarbures, de détergents, etc.). Des variations importantes peuvent être notées au cours de la journée entre la période diurne et la période nocturne.

Dans les milieux à faible taux de renouvellement (lacs, retenues de barrages, baies, etc.) la teneur en oxygène dissous a tendance à diminuer avec la profondeur, et des phénomènes anaérobies peuvent se développer dans les fonds. Quand la température s'élève, la teneur en oxygène diminue en raison de sa plus faible solubilité, mais aussi à cause de la

consommation accrue par les êtres vivants et les bactéries qui se multiplient. Ainsi peut être favorisée la réduction des nitrates en nitrites et des sulfates en sulfures. Ces modifications peuvent entraîner des goûts et des odeurs désagréables. De plus, si la teneur est inférieure à 5 mg/L, la couche protectrice dans les canalisations métalliques se formera difficilement, et l'anhydride carbonique libre d'une eau non agressive sera susceptible d'amener la corrosion. D'un point de vue industriel, les eaux de chaudière haute pression ne doivent pas en contenir plus de 0,3 mg/L. L'OMS recommande que les niveaux d'oxygène dissous soient maintenus aussi près que possible de la saturation. Aucune valeur guide fondée sur des critères de santé n'est proposée.

Pour les eaux superficielles destinées à être utilisées pour la production d'eau potable les limites de qualité fixées par la réglementation française actuelle concernent le taux de saturation en oxygène dissous dont la valeur guide peut varier en fonction du niveau de traitement mis en œuvre pour la production de l'eau potable. Pour un traitement physique simple suivi d'une désinfection (groupe A 1), la valeur guide correspond à plus de 70 % de saturation. Dans le cas d'un traitement physique et chimique précédant une désinfection (groupe A 2), la valeur guide indique un taux de saturation supérieur à 50 % et si le traitement mis en œuvre est encore plus poussé et fait intervenir une étape d'affinage (groupe A 3), ce taux de saturation peut être plus faible, et seulement supérieur à 30 %.

Pour le respect de la vie biologique dans les eaux douces, la réglementation européenne précise les niveaux guide et les valeurs impératives conseillées selon le classement piscicole des cours d'eau.

	Valeur guide	**Valeur limite impérative**
Eaux salmonicoles	> 7 mg/L – 100 % du temps > 9 mg/L – 50 % du temps	> 9 mg/L – 50 % du temps
Eaux cyprinicoles	> 5 mg/L – 100 % du temps > 8 mg/L – 50 % du temps	> 7 mg/L – 50 % du temps

Ozone

L'ozone est le désinfectant le plus puissant utilisé en traitement des eaux, avec une efficacité indépendante du *p*H. Possédant une importante efficacité bactéricide et virulicide, il est largement utilisé dans les filières de production d'eau potable, en traitement préliminaire (préozonation), intermédiaire (inter-ozonation), en traitement de finition (post-ozonation) et en désinfection finale. Il s'emploie encore pour la désinfection des eaux de piscines et dans certains circuits industriels pour réduire les biomasses fixées. Par contre sa faible stabilité ne fait pas de l'ozone un désinfectant rémanent.

Il est susceptible d'agir sur l'eau en donnant des radicaux hydroxylés qui vont former des hydroperoxydes, des peroxydes d'acide et des époxydes. Il est admis que le maintien d'un taux d'ozone résiduel de 0,4 mg/L pendant 4 minutes permettrait l'élimination des virus. Cependant, étant donné que son activité germicide ne peut être maintenue jusqu'au robinet du consom-

mateur, il n'assure pas une protection contre une recontamination se produisant au cours de l'acheminement de l'eau traitée. L'ozonolyse favorise la destruction des molécules à l'origine de la coloration et celle des complexes des acides humiques avec le fer et le manganèse. Son pouvoir oxydant est très utile pour la lutte contre les odeurs et les saveurs désagréables. Il permet aussi de lutter contre l'azote ammoniacal, les précurseurs de composés halogénés, les détergents, etc. Enfin, il aide à la transformation des composés non biodégradables en composés plus facilement biodégradables. Il semble que l'ozonation améliore les caractéristiques de l'eau sur le plan de la présence de molécules organiques potentiellement mutagènes. Lorsque la dose d'ozone est suffisante, les pouvoirs mutagènes et/ou promoteurs diminuent ou disparaissent.

L'ozone possède une très forte réactivité avec les composés présents dans les eaux naturelles (cf. § A-13.4.1 Chimie de l'ozone). Les réactions (directes ou radicalaires) de l'ozone avec les constituants de l'eau conduisent à une consommation rapide de l'ozone en solution et à la formation de nombreux sous-produits d'ozonation (molécules oxygénées de type acide carboxylique, aldéhyde et cétone). En présence d'ions bromure, l'ozonation d'eaux naturelles peut conduire à la formation d'ions bromate (BrO_3^-). L'ion bromure (naturellement présent dans les eaux naturelles est relativement facilement oxydé en ion hypobromite par l'ozone, puis, dans certaines conditions, en ion bromate.

La toxicité de l'ion bromate a conduit le Conseil de l'Union Européenne, puis la France, à introduire le paramètre bromate dans les limites de qualité pour l'eau potable, avec une valeur de 25 µg/L (à compter du 25/12/2004) puis de 10 µg/L (depuis le 25/12/2008).

Parmi tous les oxydants, c'est l'ozone qui a le potentiel d'oxydo-réduction le plus élevé. Dans le cas d'une décontamination microbienne, l'ozone ne peut pas coexister avec le dioxyde de chlore ou le chlorite de sodium qui sont finalement oxydés en chlorates. Pour la décontamination des eaux usées, il semble qu'il soit nécessaire d'injecter pendant 20 min une quantité d'ozone comprise entre 9,5 et 14 mg/L pour obtenir une concentration moyenne de 10^3 coliformes totaux pour 100 mL. Les rejets d'eaux ainsi traités sont reconnus comme dépourvus de toxicité pour le milieu récepteur.

Persulfates

Les persulfates les plus couramment rencontrés sont les persulfates d'ammonium, de potassium et de sodium. Ces produits stables à l'obscurité se décomposent à la chaleur et à l'humidité, en libérant de l'oxyde de soufre. Leur emploi industriel est lié à leur fort pouvoir oxydant. Ils sont utilisés dans le traitement des textiles, comme catalyseurs de polymérisation, dans la photographie et la coiffure (accélérateurs de décoloration). La littérature ne fait pas état d'intoxications par voie digestive, les intoxications étant essentiellement constituées par des dermatoses de contact et des manifestations respiratoires.

Perturbateurs endocriniens

La première définition d'un perturbateur endocrinien a été proposée en 1996, « agent exogène qui interfère avec la synthèse, la sécrétion, le transport, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles dans l'organisme qui sont responsables de l'homéostasie, de la reproduction, du développement ou du comportement ». Depuis, cette définition a été reprise et d'autres définitions ont été proposées. Ainsi, en 1997, la commission Européenne définit un perturbateur endocrinien comme étant « une substance exogène qui provoque des effets néfastes sur un organisme sain, ou sa progéniture, dus à des modifications de la fonction endocrine ».

Des centaines de substances sont aujourd'hui connues pour avoir des effets perturbateurs endocriniens (ou suspectées de l'être), dont des substances naturelles (hormones naturelles normalement présentes chez l'Homme et les animaux, les phytoestrogènes présents dans certaines plantes et certaines mycotoxines produites par des champignons), des substances anthropiques (hormones de synthèse spécialement conçues pour moduler le système endocrinien et retrouvées dans les contraceptifs oraux, les traitements hormonaux substitutifs et certains additifs alimentaires pour animaux), des produits chimiques (utilisés dans l'industrie, l'agriculture ou les biens de consommation ainsi que certains sous-produits industriels) et des métaux lourds.

Parmi les perturbateurs endocriniens les plus couramment retrouvés dans différents types d'eaux, on inclut : les pesticides (cf. § A-10.24), les composés organochlorés (dioxines, PCB) (cf. § A-10.24 et A-10.13), les alkyl phénols (cf. § A-10.25) et leurs produits de dégradation de type éthoxylates (nonylphénols), le bisphénol A (cf. § A-10.25), les phtalates (cf. § A-10.26) et, évidemment, les dérivés hormonaux (tels que présentés § A-10.23). Leur action au niveau du système endocrinien est connue principalement à trois niveaux, par interférence avec l'action des estrogènes endogènes, par altération de la synthèse ou du métabolisme des stéroïdes, et par interaction avec les protéines de transport plasmatiques.

Diverses méthodes peuvent être utilisées pour étudier la capacité de produits chimiques à interagir avec le système endocrinien. Les essais *in vitro* sont rapides, peu coûteux, reproductibles et n'utilisent pas d'animaux vivants. Ils permettent d'identifier les perturbateurs endocriniens potentiels et d'étudier les mécanismes d'action. Ces tests ne prennent cependant pas en compte les interactions possibles au sein de l'organisme et les notions de bioaccumulation.

Trois principaux types d'essais *in vitro* sont utilisés, ils reposent sur l'affinité de liaison au récepteur (tests rapides sur récepteurs hormonaux de différentes espèces et différents tissus qui ne permettent pas de différencier molécules agonistes et antagonistes), la prolifération cellulaire (test sensible sur cellules hormono-dépendantes sur un temps de 4 à 6 jours, mais qui peut induire des faux positifs) et l'expression de gènes (test rapide qui permet de mesurer la capacité à induire la synthèse de protéines ou enzymes hormono-dépendantes tout en différenciant molécules agonistes et antagonistes mais pouvant conduire à des faux négatifs ou positifs).

Les tests *in vivo* sont réalisés sur animaux vivants et prennent en compte les interactions possible au sein de l'organisme, permettant ainsi de réel-

lement déterminer si une substance chimique est un perturbateur endocrinien. Suivant la durée de l'essai, deux catégories de test *in vivo* peuvent être discernées : les tests à « court terme » (réalisés sur une seule génération et n'observant que quelques troubles endocriniens) et les tests à « long terme », sur plusieurs générations (pour évaluer aussi complètement que possible tous les effets provoqués par un produit chimique sur la reproduction de l'animal testé). Dans les deux cas, afin de déterminer le potentiel (anti-) estrogénique ou (anti-) androgénique d'une substance, plusieurs paramètres peuvent être mesurés. Ces paramètres peuvent être : le poids et l'histologie des organes de reproduction, les taux sériques des hormones, la synthèse de protéines, le comportement, la croissance, le développement, le maintien de la grossesse, l'anatomie et la morphologie.

Observés sur diverses espèces animales et sur différents continents, les exemples de perturbation du système endocrinien des animaux sont nombreux. Ils englobent des troubles thyroïdiens, de la reproduction ou d'autres troubles aboutissant généralement à un déclin de l'espèce animale considérée. Chez les animaux, dans certains cas, les effets perturbateurs endocriniens observés ont fortement été corrélés à la présence d'une ou plusieurs substance(s) chimique(s) particulière(s).

Chez l'Homme, hormis le cas de situations accidentelles donnant lieu à une exposition aiguë, aucune relation causale entre l'exposition à une substance spécifique et des effets néfastes sur la santé humaine n'a été établie. Les effets potentiels des composés perturbateurs endocriniens sur l'Homme sont donc sujets à controverses. Les troubles endocriniens corrélés à l'exposition accidentelle d'une substance spécifique sont rares. L'exposition au diéthylstibestrol (DES), de 1945 à 1977, constitue un exemple connu de perturbation du système endocrinien. Le DES, est un estrogène synthétique qui a été largement prescrit chez les femmes afin de limiter les risques d'avortements spontanés. À partir de 1971, il s'est avéré à l'origine de nombreux troubles de la reproduction chez les individus préalablement exposés *in utéro*. (adénocarcinomes du vagin et du col de l'utérus, infertilité et avortements spontanés chez la femme, malformations génitales chez l'homme). L'accident de Seveso en Italie (en 1976) constitue également un exemple de perturbation du système endocrinien de l'Homme par les dioxines. Au cours des 8 années suivantes, une modification du sex-ratio (48 filles pour 26 garçons) a été observée. Cet effet a été corrélé aux concentrations sanguines élevées en TCDD des parents.

Ces dernières décennies, la prévalence de troubles endocriniens chez l'homme semble augmentée. En Europe, comme aux Etats-Unis, une augmentation des cancers hormono-dépendants ainsi qu'une augmentation des anomalies du système reproducteur et une altération de la qualité du sperme ont été observés. Jusqu'à présent, malgré des différences géographiques parfois observées, aucune relation de cause à effet n'a pu être établie. Concernant, la prévalence croissante du cancer du sein depuis 50 ans, diverses hypothèses ont été émises dont l'exposition à des polluants environnementaux tels que les PCBs. Non clairement confirmée par d'autres études cependant, cette hypothèse ne peut, pour l'instant, pas directement être corrélée à la maladie.

Certains composés perturbateurs endocriniens sont généralement retenus dans les études :

– des hormones naturelles (17 -estradiol ou E_2, estriol ou E_3, estrone ou E_1),

– des hormones de synthèse (17 -éthinylestradiol ou EE_2),

– des composés utilisés dans l'industrie (4-*n*-nonylphénol ou NP et bisphénol A ou BPA).

La présence des hormones stéroïdiennes dans l'environnement peut avoir deux origines, la synthèse endogène par l'Homme et les animaux (E_2, E_1, E_3), la synthèse par voie chimique, dans le cas des hormones synthétiques. Ces dernières, produites dans un but thérapeutique ou contraceptif se retrouvent dans un grand nombre de spécialités pharmaceutiques. Elles sont soit identiques aux hormones naturelles (estrogènes et progestogènes), soit dérivées (ex : éthinylestradiol). En plus de leur rejet possible dans les eaux résiduaires des industries de fabrication et de traitement, leur présence dans l'environnement résulte de leur élimination dans les urines et les fécès. Ainsi, certaines hormones (estrogènes et progestogènes), données comme traitements hormonaux substitutifs peuvent également constituer des sources d'estriol, d'estrone, d'estradiol ou de progestérone pour les eaux brutes. Il a été montré en effet que 65 % et 15 % d'estradiol ou d'estrone administrés par voie orale, sont excrétés respectivement dans les urines et les fécès. De même, 26 % de la quantité d'éthinylestradiol absorbée serait excrétée.

Les dérivés éthoxylés du nonylphénol (NPE) sont une catégorie d'un groupe général de composés connus sous le nom d'alkylphenols éthoxylés (APE). Les NPE sont des composés chimiques produits en masse, résultant de l'éthoxylation du nonylphénol avec l'oxyde d'éthylène. Ils ont été utilisés pendant plus de 40 ans comme détergents, émulsifiants, agents de mouillage et agents dispersants. Les produits contenant des dérivés polyéthoxylés du nonylphénol sont utilisés dans un grand nombre de secteurs, dont la transformation des textiles, le traitement des pâtes et papiers, les peintures, les résines et les revêtements protecteurs, la récupération du pétrole et du gaz, la fabrication de l'acier, les produits antiparasitaires et la production d'énergie. On les retrouve également dans divers produits de consommation dont les cosmétiques, les produits de nettoyage et les peintures. Il n'existe pas de sources naturelles connues de NP et de NPE.

Le bisphénol A est un produit chimique produit en grandes quantités dont la consommation européenne avoisine les 600 000 tonnes/an. Il est employé comme stabilisant ou antioxydant dans plusieurs types de plastiques dont le chlorure de polyvinyle (PVC), matériau constitutif des réseaux de distribution d'eaux potables. En Europe, 90 % de sa production est utilisée pour la synthèse de polycarbonates et de résines polester époxy. Le bisphénol A se retrouve également dans de nombreux produits finis (emballages alimentaires, les compact-disques, les peintures, les remplissages dentaires, etc.). Il n'existe pas de sources naturelles connues de bisphénol A. Toutefois, un relarguage possible de bisphénol A par les résines époxy peut également être envisagé, ceci lorsque les mélanges de composants sont mal optimisés (tel est le cas lors de l'application de couches d'étanchéité dans les réservoirs ou à l'intérieur de canalisations en réhabilitation). Il a été observé une augmentation de la dose en bisphénol A contenue

dans l'eau au cours du temps lors de l'utilisation de polycarbonate pour le transport et la distribution des eaux conditionnées.

La persistance d'une substance dans l'environnement est sous l'influence d'un grand nombre de facteurs dont ses propriétés physiques et chimiques ainsi que les caractères écosystémiques (natures, concentration des populations microbiennes et des matières dissoutes et en suspension, la température, le degré d'ensoleillement…). En général, les principaux mécanismes d'élimination dans les écosystèmes aquatiques sont la volatilisation et l'adsorption sur les solides en suspension et les sédiments, la dégradation ou la transformation chimique et photochimique, l'absorption et la transformation par les micro-organismes. Au sein des stations d'épuration, en plus de l'adsorption possible sur les boues et les sédiments, la principale étape d'élimination des polluants organiques est la biodégradation.

Certaines études françaises ont permis de détecter des teneurs comprises entre 2 et 200 ng/L d'hormones dans les eaux usées en entrée de station d'épuration (l'estrone étant toujours le composé le plus présent), plusieurs dizaines de µg/L d'alkylphénols totaux (les dérivés éthoxylés des nonylphénols étant les plus présents). Les rendements d'élimination des hormones et des alkylphénols par les étapes d'épuration biologique (boues activées, biofiltres, lits bactériens, lagunage) sont de l'ordre 60 à 95 % (voire 100 %), le lagunage présentant les meilleurs rendements. Le bisphénol A est également éliminé. Une étude sur les stations d'épuration de l'Ile de France a montré récemment que 90 % du 4-ter octylphénol, du isononylphénol et du bisphénol A sont éliminés, alors que les hormones (E1, E2, E3 et EE2) sont éliminées à seulement 30 à 50 % en moyenne. Les rejets des stations d'épuration conservent encore quelques ng/L d'hormones et quelques µg/L d'alkylphénols. Il n'est donc pas étonnant de pouvoir en détecter dans les eaux de rivière.

La littérature internationale indique des concentrations en nonylphénol dans les rivières qui sont généralement comprises entre quelques dixièmes de µg/L et quelques µg/L. Il y a quelques exceptions puisqu'une étude effectuée en Angleterre a mis en évidence une teneur maximale de 22 µg/L de nonylphénol, et plus récemment, une autre étude effectuée aux Etats-Unis a relevé une concentration maximale de 40 µg/L de nonylphénol dans l'eau d'un ruisseau. Dans les rivières de l'Ile de France (autour de la région parisienne), la somme des hormones (détectées récemment) est de l'ordre 5 à 10 ng/L avec une concentration moyenne par molécule de 2 ng/L, le bisphénol A est présent à des concentrations comprises entre 30 et 40 ng/L et celles en 4-ter octylphénol entre 40 à 50 ng/L. Les phtalates, autres polluants potentiellement perturbateurs endocriniens, les concentrations dans les mêmes rivières sont beaucoup plus importantes, c'est-à-dire de quelques µg/L (en moyenne 4 µg/L au total de ceux analysés).

Face aux troubles de la reproduction observés sur les animaux, et de manière à évaluer au mieux les composés susceptibles d'être responsables de tels effets, de nombreuses études *in vivo* portant sur la détermination des concentrations minimales susceptibles d'entraîner des phénomènes de féminisation (LOEC : Lowest Observable Effect Concentration) ont récemment été effectuées sur différents composés perturbateurs endocriniens. Pour chaque composé, divers critères de féminisation ont

pu être suivis. On note parmi eux, comme l'induction de la vitellogénine, l'apparition de « testis-ova » et la modification du « sex ratio ».

Pour le 17 -estradiol, les expériences effectuées sur des truites arc-en-ciel ont montré l'induction de vitellogénine après 14 jours d'exposition à des doses de 4,7 à 7,9 ng/L d'estradiol. De très faibles valeurs de LOEC ont également été reportées lors des études d'induction de testis-ova chez des medakas (*Oryzias latipes*). En effet, certains auteurs reportent 10 % d'intersexualité sur un groupe de medakas exposé pendant 100 jours à 10 ng/L. Lors d'une exposition à 100 ng/L, concentration à laquelle tous les mâles développent un phénomène de testis-ova, une modification du sex-ratio a été mise en évidence. Une activité estrogénique similaire a été déterminée pour l'estrone, certains auteurs citent même une LOEC de 2 ng/L. L'estriol est le composé qui présente la plus faible activité estrogénique potentielle. *In vitro*, son pouvoir estrogénique a été évalué 30 fois moins important que celui de l'estradiol. Enfin, l'éthinylestradiol semble être le plus puissant des estrogènes étudiés puisqu'il est reporté pour ce composé une induction de vitellogénine chez la truite arc-en-ciel après 10 jours d'exposition à 0,1 ng/L d'éthinylestradiol. L'intersexualité de Medakas a été observée après 100 jours d'exposition à 0,1 ng/L d'éthinylestradiol.

Les activités estrogéniques potentielles du nonylphénol et du bisphénol A sont d'une manière générale plus faibles que celles des hormones naturelles ou de synthèse. Pour le nonylphénol, des expériences réalisées sur des jeunes truites arc-en-ciel ont montré l'induction de vitellogénine après 14 jours d'exposition à des doses de l'ordre de 6,1 à 6,4 µg/L. Lors d'études portant sur l'induction de testis-ova chez des medakas, 50 % et 86 % des poissons mâles exposés respectivement à 50 et 100 µg/L de nonylphénol jusqu'à l'âge de 3 mois ont développé un phénomène d'intersexualité. Lors d'une exposition à 100 µg/L de nonylphénol, un changement du sex-ratio de l'ordre de 1 mâle/2 femelles contre 2 mâles/1 femelle dans le groupe témoin, a également été observé. Pour le bisphénol A, les études réalisées *in vivo* sur des truites arc-en-ciel ont montré l'induction de vitellogénine pour une LOEC de 40 à 70 µg/L après 12 jours d'exposition. D'autres auteurs reportent un phénomène d'intersexualité chez des medakas mâles exposés pendant 100 jours à 10 µg/L de bisphénol A.

Les concentrations en perturbateurs endocriniens retrouvées dans les eaux de surface sont, dans certains sites et pour certains composés, comparables aux LOEC déterminées *in vivo*. Ainsi, dans certaines eaux, les concentrations en estradiol, estrone et éthinylestradiol seraient suffisamment importantes pour expliquer les phénomènes de féminisation observés sur les poissons mâles. De même, dans certains cas, les concentrations en nonylphénol retrouvées dans les eaux de surface pourraient expliquer l'apparition de tels troubles. Concernant l'estriol en revanche, les données trop peu nombreuses portant sur ses concentrations dans le milieu aquatique, ne permettent pas d'établir un lien entre la présence de ce composé dans l'environnement et un effet estrogénique observé. De même, de par des concentrations dans les eaux généralement inférieures aux LOEC déterminées *in vivo*, la contribution du bisphénol A aux phénomènes de féminisation ne peut directement être établie. En réalité, dans le milieu aquatique, divers facteurs influent sur l'implication des composés estrogéniques à développer des troubles endocriniens. Il a été constaté

par exemple que les composés estrogéniques présents dans les eaux peuvent exercer une action additive, c'est-à-dire développer une activité estrogénique pour une concentration inférieure à la LOEC, lorsqu'ils sont présents dans un mélange de plusieurs composés estrogéniques. Un tel phénomène a été observé lors de la combinaison de l'estradiol avec l'éthinylestradiol et de l'estradiol avec le nonylphénol. De même, les effets perturbateurs endocriniens observés dépendent de la sensibilité de l'espèce animale considérée et de la période d'exposition, les périodes de vie les plus sensibles étant la phase de différenciation sexuelle et certaines étapes du cycle de reproduction. Enfin, la durée et la continuité de l'exposition au polluant influent également sur la réponse estrogénique. Il a été montré en effet que lors d'une exposition à long terme, de plus faibles concentrations en perturbateurs endocriniens pouvaient induire des phénomènes de féminisation. De même, une exposition intermittente à de fortes concentrations en estrogènes entraînerait de plus vastes effets qu'une exposition continue à faibles concentrations.

Lors du traitement des eaux destinées à la consommation humaine, on estime actuellement (sur la base des faibles données disponibles) que la coagulation-floculation élimine moins de 20 % des perturbateurs endocriniens principaux (hormones, alkylphénols et bisphénol A), mais que l'ozonation ou la filtration sur CAG en élimine plus de 90 %. Par ailleurs, l'étape de désinfection finale par le chlore (voire par les UV) peut aussi contribuer. Par suite, en 2008, ce type de molécules n'a pas été détecté dans les eaux potables distribuées en France. Leurs sous-produits de d'oxydation par l'ozone ou le chlore (bien qu'en partie connus) ne sont pas encore recherchés.

Les auteurs remercient Marie DEBORDES pour son travail bibliographique de doctorat qui a alimenté très significativement ce paragraphe (Thèse soutenue à l'Université de Poitiers, le 19 janvier 2006).

Pesticides (produits phytosanitaires)

Sous le nom de pesticides on désigne généralement les produits utilisés pour lutter contre les organismes qui portent atteinte à la santé publique, ou qui s'attaquent, à tous les stades et de toutes les manières, aux ressources végétales ou animales nécessaires à l'alimentation humaine, à l'industrie ou encore tout simplement à la préservation de l'environnement. Les estimations actuelles font apparaître qu'environ 40 % des récoltes mondiales sont détruites par les parasites, la part des pays industrialisés étant de l'ordre de 20 %. En France, environ 60 000 tonnes de pesticides organiques de synthèse sont utilisées annuellement contre 20 000 tonnes de cuivre et de soufre (cf. § A-10.24).

Si l'on classe les pesticides d'après leurs usages, c'est-à-dire d'après leur rôle biologique, on distingue les insecticides, les fongicides, les herbicides, les acaricides, les nématocides, les rodenticides, etc. (*voir* tableau ci-joint).

Pour l'étude des problèmes de l'eau, les pesticides peuvent être classés suivant leurs caractéristiques chimiques. En dehors des substances minérales comme le soufre, le sulfate de cuivre, les arséniates de plomb et de calcium,

ont été ou sont encore employés les composés organiques chlorés, que ce soient des insecticides : DDT, lindane, aldrine, dieldrine, heptachlore, etc., ou des herbicides dérivés chlorés de phénoxyacides : 2,4-D, 2,4,5-TP, etc. Parmi les autres composés organiques, on rencontre surtout des organophosphorés utilisés comme insecticides (parathion, malathion, phosdrine…). Mais il existe aussi des composés organiques ou organométalliques dont les molécules comportent des groupements fonctionnels très variés comme les dérivés de l'urée, les triazines employés comme herbicides, les carbamates et les dithiocarbamates utilisés comme insecticides ou fongicides, etc.

Les familles chimiques de substances actives en tant que pesticides sont présentées dans le tableau de l'introduction du paragraphe A-10.24. Ce tableau donne pour chaque famille une liste des molécules les plus connues ou les plus recherchées dans les eaux naturelles.

Les conséquences néfastes dues aux antiparasitaires de synthèse peuvent se résumer ainsi :

— rémanence et stabilité chimique conduisant à une accumulation dans les chaînes alimentaires ;

– danger à court ou à long terme pour l'homme et sa descendance ;

– rupture de l'équilibre naturel : extinction progressive d'espèces nuisibles ou non, développement inattendu d'organismes servant de nourriture aux espèces en déclin ;

– accoutumance de quelques races aux pesticides, d'où une extension des quantités utilisées.

Le problème de la protection de la santé publique contre les pesticides est majeur dans les pays en voie de développement où les mécanismes de contrôle et de surveillance sont souvent limités.

La toxicité aiguë et la toxicité à long terme ne sont pas les seuls éléments à prendre en compte pour les risques développés par les pesticides. Il faut aussi tenir compte des actions carcinogène, mutagène et tératogène. Pour cela le lecteur se reportera au tableau de la section G.2.3. Dans le cas de la présence de plusieurs composés organiques, l'évaluation de la toxicité doit prendre en considération l'éventualité d'une addition des actions toxiques individuelles, les phénomènes de synergie et aussi la possibilité de réactions antagonistes.

Les différentes familles de pesticides

A) *Insecticides*

Organochlorés	Organo-phosphorés	Sulfonates	Carba-mates	Divers (acaricides)
– Groupe du DDT et composés voisins. – Groupe de l'HCH. – Groupe du chlordane (cyclodiènes). – Camphènes chlorés type : toxaphène, etc.	*Externes :* Azinphos éthyl, Diazinon, etc. *Endothérapiques :* Diméthoate, Endothion, etc.	Fénizon, Chlorfénizon, Tétradifon, etc.	Carbaryl, Aldicarbe, etc.	Binapacryl, Plictran, etc.

B) *Fongicides*

Origine minérale	Dithio carbamates	Dérivés du benzène	Phtalimides	Dérivés de la quinoléine	Colorants nitrés	Fongicides divers	Mercure
Produits cupriques à base d'oxyde cuivreux, de sulfate ou surtout d'oxychlorure, Soufres, etc.	Manèbe, Zinèbe, Mancozèbe, Zirame, Propinèbe, Métam-Sodium, Thirame, etc.	Hexachlorobenzène, Quintozène, etc.	Captane, Folpel, Captafol, etc.	Oxyquinoléate de cuivre, etc.	DNOC DNPB etc.	Dinocap, Doguadim, Thiabendazole, Benomyl, etc.	Composés organomercuriels pour le traitement fongique des semences

C) *Herbicides*

Phénols et Crésols	Aryloxyacides	Carbamates	Urées substituées	Diazines et Uraciles
Colorants nitrés, Dinosèbe, etc.	Phyto-hormones de synthèse, MCPA, 2,4-D, 2,4,5-T, Mécoprop, Fénoprop, MCPB, 2,4-D B, etc.	Chlorprophame, Barbane, Phenmediphame, Sulfallate, Diallate, Triallate, etc.	Neburon, Monuron, Diuron, etc.	PCA, Lénacile, Bromacile, etc.

Triazines	Triazoles	Amides	Dipyridyles	Dérivés phtaliques
Simazine, Atrazine, Desmétryne, Terbutryne, etc.	Aminotriazole, etc.	Diphénamide, Carbétamide, Propachlore, Métolachlor, etc.	Dérivés des ammoniums quaternaires, Diquat, Paraquat, etc.	Chlortal, Naptalame, etc.

Nitriles	Acides organiques halogénés
Dichlobényl, Chlortiamide, etc.	Dalapon, TCA, etc.

D) *Produits divers*

Rodenticides	Corvicides	Nématicides
ANTU, Coumafène, Coumachlore, Chlorophacinone, Crimidine, etc.	Anthraquinone, Glucochoral, Chloralose, etc.	Dibrométhane, Dichloropropane, Dichloropropène, Métam-Sodium, Méthomyl, etc.

Extrait du *Code Permanent Environnement et Nuisances*
Éditions législatives et Administratives, Paris.

Dans certains cas, les produits de dégradation des pesticides soit plus toxiques que les pesticides eux-mêmes. De très faibles doses d'insecticide, absorbées chaque jour, peuvent être stockées dans l'organisme et avoir un effet cumulatif. Considérés dans leur ensemble, les pesticides phosphorés ont une toxicité aiguë plus grande pour l'homme et les mammifères que les pesticides chlorés.

Cependant leur stabilité est beaucoup plus réduite car la molécule qui les constitue a tendance à s'hydrolyser et de ce fait, ils poseront à long terme moins de problèmes de toxicité chronique. Cette dégradation dépend aussi de la nature de l'environnement : tel organophosphoré ayant, au laboratoire, une demi-vie de 30 jours, aura, *in situ*, une demi-vie de 9 jours. La présence des organochlorés dans l'eau nécessite plus d'attention car ces produits sont beaucoup plus stables que les autres en milieu aqueux. Ainsi le toxaphène, ajouté en concentrations allant de 0,003 à 0,1 mg/L dans 16 lacs de la Colombie britannique, a persisté durant une à quatre années. Les hydrocarbures chlorés constituent le problème le plus important des pesticides en raison de leur très large utilisation, de leur rémanence dans le milieu et de leur toxicité pour les mammifères. Lorsqu'ils sont absorbés par l'organisme, quelques-uns de ces produits ne sont pas métabolisés rapidement et sont alors stockés dans les graisses. La sévérité des symptômes d'intoxication varie en fonction du type de produit, de la pénétration et de la concentration dans le système nerveux central. Même si l'action carcinogène de certains produits a été prouvée chez l'animal, les extrapolations de tels résultats à l'homme restent délicates. En effet, les expérimentations sont réalisées avec des doses de 100 à 1 000 fois plus grandes que celles trouvées dans les eaux. À ce niveau, les processus de détoxication et de réparation peuvent être annihilés et les phénomènes ainsi développés peuvent être tout autre que ceux qui seraient produits par de faibles doses ne provoquant pas de modifications dans les processus biochimiques de l'organisme.

Indépendamment de l'action toxique directe ou indirecte, on peut rencontrer des nuisances liées à une saveur ou à une odeur communiquée à l'eau. Le tableau en page suivante donne quelques indications à ce sujet.

Pesticides	Seuils de perception (mg/L)	
	Odeur	Goût
Malathion	0,05 à 0,25	5,0 à 6,0
Parathion	0,001 à 0,004	0,08
Parathion méthyl	0,02 à 0,025	1,0
2,4-D	0,05 à 2,0	0,05
DDT		1
HCH	0,0001 à 0,001	0,001
Chlordane	0,001	

Il faut noter que certains pays ont pris des dispositions pour limiter ou interdire l'usage du DDT. En France, l'emploi en agriculture d'un certain nombre de pesticides (DDT, HCH, aldrine, chlordane, etc.) est interdit. Dans l'état actuel des choses l'interdiction globale du DDT ne peut être envisagée dans les pays à endémie palustre sévère.

Sauf dans le cas d'un rejet accidentel, les teneurs en pesticides de l'eau étant extrêmement faibles, leur évaluation ainsi que leur identification doivent être précédées d'une extraction, d'une concentration et d'une purification (cf. §A-10.1). De ce fait, la complexité du problème analytique est considérable et tout résultat doit faire l'objet de vérifications très précises pour permettre une interprétation indiscutable.

Dans les eaux brutes françaises, la campagne analytique sur les pesticides réalisées dans les années 2004 à 2006 sur les eaux superficielles, porte sur la recherche de 418 pesticides différents avec 2 500 000 analyses réalisées. Trois familles de pesticides regroupent les molécules les plus fréquemment recherchées, il s'agit des triazines, des organochlorés et des urées substituées. Dans les eaux brutes utilisées pour la production d'eau potable les analyses effectuées au cours de cette même période montrent la présence de 195 pesticides différents, avec des différences significatives selon l'origine de l'eau. Les molécules les plus fréquemment quantifiées dans les eaux souterraines sont le déséthylatrazine et l'atrazine (respectivement dans 29 % et 19 % des cas), alors que dans les eaux superficielles ce sont l'hydroxy-2 atrazine et l'AMPA (métabolite du glyphosate) qui sont le plus souvent détectés (respectivement dans 42 % et 34 % des cas).

La réglementation actuelle (directive européenne et décret français) fixe les limites de qualité dans l'eau potable à 0,1 µg/L pour chaque pesticide (à l'exception de l'aldrine, de la dieldrine, de l'heptachlore et de l'heptachlore époxyde pour lesquels la limite est de 0,03 µg/L) et à 0,5 µg/L pour le total des pesticides mesurés. Quant aux eaux brutes (de surface ou souterraines), utilisées pour la production d'eau potable, leur limite de qualité est fixée à 2 µg/L par substance et à 5 µg/L pour la totalité des pesticides.

Il est précisé que les pesticides et produits apparentés comprennent les insecticides (organochlorés persistants, organophosphorés et carbamates), les herbicides, les fongicides et les PCB et PCT.

Il est à noter que les PCT sont des impuretés des PCB ; ces derniers ne sont pas utilisés comme pesticides mais ils se retrouvent dans les mêmes chromatogrammes que les organochlorés.

La toxicité des pesticides pour la faune aquatique varie selon les espèces et leur stade de développement (œuf, alevin, adulte) et aussi en fonction du milieu dans lequel elle se développe (teneur en oxygène et en anhydride carbonique dissous, température, *p*H). Pour le poisson, les insecticides chlorés sont beaucoup plus toxiques (environ 100 fois) que les dérivés organophosphorés et les herbicides sont beaucoup moins toxiques que les insecticides (2 000 à 3 000 fois moins).

Certains travaux indiquent une dose maximale admissible pour la faune aquatique en mg/L :

Aminotriazol	1 500
Anhydride arsénieux	2
2,4-D sel de sodium	5
2,4-D ester	3
DDT	0,1
HCH	0,035
2,4,5-T	3
Dalapon	3 000
Diquat	250
MCPA	35
Monuron	10
Paraquat	125
Permanganate de potassium	3
Sulfamate d'ammonium	10
Sulfate de cuivre	0,5
TCA	50

Cependant ces chiffres ne donnent qu'un ordre de grandeur pour des essais à court terme. Ils sont susceptibles d'être modifiés en fonction de variations importantes du milieu ou de grandes différences de taille et d'âge des organismes vivant dans l'eau.

Insecticides organochlorés

L'usage des insecticides organochlorés a été très controversé du fait d'une persistance dans l'environnement, d'une accumulation potentielle dans la chaîne alimentaire, animale et humaine (lipophilie) et de la découverte d'un potentiel tumorigène de certains produits chez la souris. Cependant, les études épidémiologiques effectuées depuis plusieurs dizaines d'années n'ont pas confirmé l'existence d'un risque réel pour l'espèce humaine. La plupart de ces insecticides ne sont pas mutagènes. Malgré leur structure chimique voisine, les différents produits de cette famille présentent de grandes différences du point de vue activité biologique et toxicité. Ils sont toutefois interdits d'utilisation aujourd'hui, sauf dérogation (cas du chloredécone aux Antilles, par exemple).

Aldrine (endohexachlorohexahydrodiméthanonaphtalène) *et* ***dieldrine*** (endohexachloroépoxyoctahydrodiméthanonaphtalène)

L'aldrine et la dieldrine sont des insecticides persistants susceptibles de se

reconcentrer dans les chaînes alimentaires. Ces composés sont utilisés pour les traitements des semences en agriculture et pour la lutte contre les termites.

Du fait de leur rémanence, ces deux composés peuvent se retrouver dans l'eau où l'aldrine est soluble à raison de 0,027 mg/L et la dieldrine à une concentration dix fois plus élevée.

L'aldrine a une toxicité aiguë 2 à 3 fois plus élevée que celle du DDT et la dieldrine 4 à 5 fois. La dose mortelle pour l'homme a été évaluée entre 3 et 5 g pour la dieldrine et à 5 g pour l'aldrine. La toxicité de ces produits est liée à l'accumulation dans l'organisme et en particulier dans les tissus adipeux. Elle se caractérise par une action sur le système nerveux central allant des troubles de la vision aux vertiges, pertes de connaissance et crises épileptiques. L'expérimentation a montré que si ces composés avaient une action carcinogène (tumeurs du foie), par contre, il n'a pas été mis en évidence d'actions tératogène et mutagène. Le Comité FAO/OMS a indiqué pour l'aldrine et la dieldrine une dose journalière acceptable de 0,0001 mg/kg. Toutefois, cette dose est considérée comme trop élevée car certaines études ont montré qu'il n'existait pas de dose sans effet observé. La valeur guide recommandée par l'OMS dans l'eau de boisson est 0,03 µg/L pour ces deux produits associés. La réglementation française a retenu cette même valeur.

Étant donné le risque présenté par ces produits et le nombre relativement important d'intoxications survenues chez les utilisateurs depuis 1970, de nombreux pays ont établi des restrictions d'utilisation pouvant aller jusqu'à l'interdiction totale ; c'est le cas de la France où ces produits sont interdits d'emploi en agriculture.

Chlordane (1,2,3,4,5,6,7,8,8-octachloro-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-méthanoindène)

Les formes cis et trans du chlordane donnent un même produit de dégradation, l'oxychlordane, qui est plus toxique pour les animaux que le chlordane initial. Tous ces produits sont rémanents mais peu mobiles dans le sol, ils se retrouvent dans les eaux souterraines. Ils se fixent sur les tissus adipeux et sont excrétés dans le lait. Le chlordane est considéré comme cancérogène chez l'animal mais non chez l'homme. Par contre ce composé n'aurait pas d'actions mutagène et tératogène.

Le Comité FAO/OMS a indiqué pour le chlordane une dose journalière acceptable de 0,001 mg/kg. L'OMS recommande pour le chlordane (isomères totaux) une valeur guide de 0,2 µg/L dans l'eau de boisson. En France, son emploi en agriculture est interdit.

Chlordécone

Pesticide utilisé entre 1981 et 1993 pour le traitement des bananiers pour lutter contre le charançon, le chlordécone (ou Képone) est un organochloré comme le DDT et le lindane. Il est très persistant et rémanent dans l'environnement. Bien qu'interdit depuis 1993, le chlordécone est actuellement à l'origine d'une pollution importante en Guadeloupe et en Martinique. Cette pollution a été découverte en 1999, et n'a fait la une des médias qu'en 2007. Ce sont les eaux naturelles qui sont polluées avec des concentrations parfois très supérieures (100 fois) à la limite tolérée (0,1 µg/L), mais

également les sols. Certains aliments sont considérés à risques, comme les légumes racines (dachine, patate douce, chou caraïbe) ainsi que les produits de la pêche (poissons d'eau douce).

La toxicité de ce pesticide est la même que celle des organo-chlorés. Son exposition à l'homme provoque des irritabilités, tremblements, troubles de la vision, céphalées (notamment pour les ouvriers exposés de manière chronique à ce produit). C'est donc un produit neurotoxique. Des effets néphrotoxiques ont été constatés chez les animaux ainsi qu'une délétion de la spermatogénèse (Pour le rat et la souris, la toxicité sur les organes reproducteurs est de 0,83 mg/kg/j chez les mâles et 1,3 mg/kg/j chez les femelles).

Le chlordécone est considéré par le CIRC comme cancérogène chez l'animal (tumeurs du foie) et donc cancérogène possible chez l'homme (groupe IIB).

Compte tenu de la pollution dans les Antilles (mentionnée plus haut) plusieurs études épidémiologiques sont en cours (sur place) sur l'effet du chlordécone et autres organochlorés chez l'homme. Une première étude clinique (sur une centaine d'hommes de 20 à 50 ans) a montré que 84 % d'entre eux présentent des concentrations quantifiables de chlordécone dans le sang (notamment chez les ouvriers agricoles de la banane). Une étude du même type est menée (2008) sur les femmes et les nouveau-nés. Par ailleurs, la Guadeloupe et la Martinique présentent un taux très élevé de cancer de la prostate (par rapport aux données mondiales). Toutefois, aucune relation significative n'a pu être mise en évidence (en 2008) entre la survenance de la maladie et l'exposition aux organochlorés. Une étude épidémiologique sur la fertilité masculine des agriculteurs n'a également pas conclu sur l'effet du chlordécone.

Un plan d'action de lutte contre la pollution est en cours aux Antilles (adsorption sur charbon actif pour le traitement des eaux destinées à la consommation humaine, mise en place d'une stratégie de contrôles analytiques, recherche de plantes sélectives pour résister aux insectes, recherche de lutte intégrée contre le charançon, etc.).

1,3-Dichloropropène

Le 1,3-dichloropropène constitué par un mélange d'isomères cis et trans est utilisé comme fumigant dans le traitement des sols, plus particulièrement contre les nématodes présents dans les sols sablonneux. Il est considéré comme mutagène et carcinogène. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 µg/L correspondant à un risque additionnel d'un cancer pour 10^{5} individus.

DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane)

Ce produit a été très largement utilisé dans les contrées tropicales pour la lutte antivectorielle (paludisme, filiarose, maladie de Chagas, fièvre jaune, etc.) et pour la médecine humaine et vétérinaire (tiques, gale, poux, etc.). En agriculture, il a été employé comme insecticide foliaire, pour la lutte antiacridienne et le traitement des semences et des bois. Certains pays en ont limité, voire interdit l'utilisation : en France, son emploi en agriculture est interdit. De ce fait, le DDT n'est généralement plus détecté dans les eaux, il est seulement mis en évidence dans certains sédiments, mais il est encore largement utilisé ailleurs.

Dans les produits commerciaux, il existe plusieurs isomères avec une dominante du p-p′DDT. La solubilité dans l'eau est faible : 0,0012 mg/L.

Ce produit, du fait de sa stabilité et de sa résistance à la dégradation chimique ou microbienne, a un caractère rémanent (demi-vie de 10 à 20 ans). Du fait de sa liposolubilité, il se fixe en particulier dans les tissus adipeux, le système nerveux central, le foie et le lait. L'action toxique serait liée à des propriétés inhibitrices des adénosine-triphosphatases qui jouent un rôle dans les phosphorylations oxydatives.

Les expérimentations sur l'animal montrent que le risque cancérogène n'est pas à exclure ; toutefois, les études épidémiologiques chez l'homme n'ont pas encore permis de tirer une conclusion en la matière. Expérimentalement, il n'a pas été mis en évidence d'effets tératogène et mutagène.

Le Comité FAO/OMS a indiqué en 1969 pour le DDT une dose journalière acceptable de 0,005 mg/kg. La valeur guide recommandée par l'OMS pour l'eau de boisson est de 2 μg/L. Cette valeur a été choisie pour la protection de l'homme mais non pour celle de l'environnement. L'avantage de son utilisation dans la lutte antivectorielle dépasse de loin les risques générés par sa présence dans l'eau de boisson.

Endrine (1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-époxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octa-hydro-endo-1,4-endo-5,8-diméthanonaphtalène)

L'endrine est soluble dans l'eau à 0,25 mg/L. Des intoxications alimentaires sont survenues en Arabie Saoudite (1956) après consommation de pain fait avec de la farine accidentellement contaminée (26 morts). Comme la plupart des dérivés de cette série organique, l'endrine a un caractère rémanent, se fixe sur les tissus adipeux et développe une action sur le système nerveux central. L'action carcinogène et tératogène est suspectée.

Heptachlore (1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-3a,4,7,7a-tétrahydro-4,7-méthanoindène) *et époxyheptachlore* (1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-2,3-époxy-3-a,4,7,7a-tétrahydro-4,7-méthanoindène)

La solubilité dans l'eau de l'heptachlore est d'environ 0,056 mg/L, celle de l'époxyheptachlore de 0,35 mg/L. L'heptachlore s'oxyde rapidement en 2,3-époxyheptachlore, plus stable donc plus toxique. L'heptachlore a une toxicité aiguë 8 à 10 fois plus élevée que le DDT, l'intoxication chronique se traduisant par une altération des fonctions hépatiques et rénales. L'heptachlore et l'époxyheptachlore sont considérés comme hépato-carcinogènes chez l'animal.

Le Comité FAO/OMS a indiqué pour l'heptachlore et l'époxyheptachlore une dose journalière acceptable de 0,5 μg/kg. La valeur guide recommandée par l'OMS pour l'eau de boisson est de 0,03 μg/L. La réglementation française a retenu cette même valeur. En France, l'emploi de ces produits en agriculture est interdit. Son utilisation est limitée ou interdite dans de nombreux pays. Il est surtout utilisé en injection dans le sol pour lutter contre les termites.

Lindane et ***hexachlorocyclohexane*** (HCH)

L'hexachlorocyclohexane technique (HCH) correspond à un mélange de divers stéréoisomères de l'hexachlorocyclohexane (α,) et de composés chlorés complexes dont l'heptachlorocyclohexane et l'octachlorocy-

clohexane. Les isomères α et β ont des effets neuro-inhibiteurs et une demi-vie très prolongée. Le produit commercial ou lindane est généralement constitué à 99 % par de l'isomère γ qui est le seul réellement actif et a une demi-vie courte. Les solubilités dans l'eau des isomères sont différentes ainsi que leur efficacité.

Le lindane est interdit d'utilisation agricole depuis 1998, mais il est encore utilisé comme biocide pour le traitement des charpentes. Le HCH est interdit d'utilisation et de mise sur le marché depuis les années 80.

L'intoxication aiguë développe des vomissements, des diarrhées, des céphalées, des vertiges et éventuellement des convulsions ; elle est généralement plus sévère chez l'enfant. Le lindane est métabolisé par déhydrochloration et finalement éliminé principalement sous forme de chlorophénols sulfo- ou glycuro-conjugués. Le lindane qui est très liposoluble est considéré comme ayant une action carcinogène pour l'animal, par contre, il n'a pas été mis en évidence d'actions mutagène et tératogène. La dose journalière admissible a été fixée à 0,0125 mg/kg. La valeur guide recommandée par l'OMS pour l'eau de boisson est 2 µg/L.

Méthoxychlore (métoxyphényltrichloroéthane)

Dérivé du chlorobenzène comme le DDT, le méthoxychlore est considéré comme 10 fois moins toxique que ce dernier. De ce fait, il est très largement utilisé aussi bien pour l'usage domestique qu'en agriculture. Dans l'eau, sa solubilité est de 0,26 mg/L et sa demi-vie d'environ 46 jours. Les expérimentations chez l'animal montrent qu'il est rapidement métabolisé et excrété sous forme de sulfo-conjugués. De ce fait, les phénomènes de concentrations dans l'organisme et dans les tissus adipeux sont très limités. Ce composé n'est pas considéré comme ayant une action carcinogène, tératogène ou mutagène.

Le Comité FAO/OMS a indiqué en 1977 pour le méthoxychlore une dose journalière acceptable de 0,1 mg/kg. La valeur guide recommandée par l'OMS pour l'eau de boisson est 20 µg/L.

Toxaphène (chlorocamphène)

Le toxaphène qui fait partie des insecticides organochlorés est constitué par un mélange complexe de dérivés du camphène. Il a été très largement utilisé en agriculture mais il ne se retrouve que très rarement dans les eaux et ne semble pas avoir beaucoup provoqué de difficultés dans l'environnement.

Insecticides organophosphorés

Le premier dérivé commercialisé de cette série a été le parathion. Bien qu'ayant une origine commune et surtout un mode d'action similaire, ces produits peuvent être très différents du point de vue composition chimique : il existe des phosphates, des thiophosphates, des dithiophosphates, des phosphonates halogénés ou non, fluorés, alkylés, hétérocycliques, etc. Très largement utilisés en agriculture, ils peuvent avoir une action externe ou bien alors transportés par la sève, avoir une action interne, ils sont dits alors systémiques. D'une façon générale, ces composés sont peu stables car ils sont rapidement hydrolysés en milieu aqueux ; ceci permet d'effectuer des traitements quelques semaines avant les récoltes. Sauf cas très particuliers, ces produits ne sont pas retrouvés dans l'eau de boisson.

Le produit de dégradation biologique peut être plus toxique que le produit initial. C'est le cas en particulier pour le parathion qui est oxydé en paraoxon très anticholinestérasique. La toxicité est très variable puisque la DL_{50} pour l'éthyl parathion varie de 4 à 5 mg/kg alors que pour le malathion, elle est de 2 800 mg/kg. La dose létale chez l'homme pour l'éthyl parathion a été évaluée à 0,1 g alors que pour le malathion elle est de 60 g. La symptomatologie de l'intoxication est caractérisée par une accumulation d'acétylcholine non hydrolysée ; du fait de l'action anticholinestérasique, l'influx nerveux est ainsi bloqué. L'intoxication aiguë se caractérise par des troubles digestifs, oculaires (myosis), une paralysie qui atteint rapidement les muscles respiratoires.

Le Comité FAO/OMS a indiqué pour le parathion et le méthyl parathion une dose journalière acceptable respectivement égale à 0,0005 mg/kg et à 0,001 mg/kg. Ces produits bien que de très haute toxicité ne sont pas connus comme susceptibles d'avoir une action cancérogène, tératogène ou mutagène.

Certains de ces insecticides organophosphorés sont interdits ou retirés du marché depuis 2003.

Carbamates

Cette famille de pesticides comprend des insecticides (carbaryl, aldicarbe…) et des herbicides (chlorprophame, barbane, phenmediphame). Les oxymes carbamates sont des insecticides systémiques ayant une toxicité élevée pour les mammifères. Leur demi vie dans l'eau est de l'ordre de 5 à 6 jours. Leur oxydation donne des composés inhibiteurs de la cholinestérase tandis que leur hydrolyse donne des composés de faible toxicité. Dans le cas de l'intoxication chez l'homme, l'inhibition de la cholinestérase qui est rapidement réversible (6 h), conduit à l'accumulation de l'acétylcholine au niveau des synapses nerveuses et des jonctions neuromusculaires. On ne dispose pas de renseignements suffisants pour estimer les effets à long terme d'une exposition chronique, toutefois, aucun effet neurotoxique n'a été démontré. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande pour l'aldicarbe une valeur guide de 10 μg/L.

Carbaryl (1-naphtyl-N-méthylcarbamate)

Le carbaryl fait partie des insecticides à très large spectre d'action, il s'est très largement substitué au DDT. Son action est liée à une inhibition de l'acétylcholinestérase mais celle-ci est réversible contrairement à celle causée par les dérivés organophosphorés. Dans l'eau il s'hydrolyse rapidement en 1-naphtol ; cette action est accélérée par l'élévation de température et la lumière. Considéré comme peu rémanent, il disparaît à peu près complètement de l'eau en une quinzaine de jours. L'intoxication chez l'homme tant aiguë que chronique est exceptionnelle. La DL_{50} est de l'ordre de 500 mg/kg chez le rat. Il n'a pas été mis en évidence d'action carcinogène, mutagène ou tératogène.

Carbofurane (N-méthylcarbamate de diméthylcarbamate de diméthyl-2,2 dihydro-2,3 benzofuranyle-7)

Le carbofurane est un acaricide, insecticide et un nématocide systémique. Il est susceptible de se dégrader par une action photochimique et microbio-

logique. Il peut être retrouvé dans les eaux souterraines à des teneurs de quelques µg/L. Les systèmes d'intoxication recoupent ceux des intoxications par les organophosphorés (inhibition de la cholinestérase). Ce produit n'est considéré ni comme cancérogène ni génotoxique. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 5 µg/L.

Dithiocarbamates

Les dithiocarbamates constituent un groupe important de fongicides. Une partie d'entre eux est constituée par des sels métalliques de l'acide éthylène-bis-dithiocarbamique, EBDC (zinc, fer, manganèse, etc.). D'une façon générale, les sels de l'acide EBDC ont une toxicité faible. Toutefois, un produit de leur décomposition, l'éthylène thiourée, présente un risque potentiel car expérimentalement il est goitrogène et susceptible d'induire un cancer de la thyroïde. L'éthylène thiourée fait partie du même groupe chimique que la thiourée et le thiouracyl dont les dérivés sont des médicaments anti-thyroïdiens. La DL_{50} chez le rat varie de 1 à plusieurs grammes par kilo ; il n'y a pas d'accumulation dans les tissus. Étant donné que le diméthyldithiocarbamate est une amine tertiaire, il est susceptible de donner des nitrosamines par réaction avec les nitrites à un *p*H bas. Il semblerait qu'il y ait une possibilité d'action tératogène et mutagène. Dans ces conditions, malgré une toxicité aiguë limitée, le Comité FAO/OMS a réduit la dose journalière acceptable pour les dithiocarbamates à 0,005 mg/kg.

Herbicides

Les herbicides utilisés en agriculture sont extrêmement nombreux et leur toxicité très variable. Ils peuvent être classés suivant leurs propriétés d'action en herbicides systémiques ou de contact ou encore en désherbants totaux ou sélectifs.

Alachlore

L'alachlore est utilisé comme herbicide de pré- et de postlevée pour la destruction des graminées et de mauvaises herbes à larges feuilles. Dans le sol, il donne des produits de dégradation et peut s'éliminer par volatilisation, photodégradation et biodégradation. Il a été retrouvé dans les eaux à des concentrations $<$ à 2 µg/L. Considéré comme cancérogène, il n'est pas reconnu comme génotoxique. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 µg/L.

Aminotriazole

Herbicide de la famille des triazoles, l'aminotriazole est très soluble dans l'eau et présente une mobilité réduite (Koc 66 cm^3/g) et une durée de demi-vie de 4 jours. Au plan de l'écotoxicologie sa CL50 sur les poissons est supérieure à 1 000 mg/L et celle sur les daphnies de 1,54 mg/L. La toxicité aiguë de l'aminotriazole est faible avec une DL50 chez le rat de 5 000 mg/kg. Il peut toutefois provoquer des pertes de poids corporel et une augmentation du poids de la thyroïde chez les animaux. En toxicité chronique, la thyroïde est le principal organe cible avec une hypertrophie thyroïdienne chez le rat, la souris et le chien. Aucun effet cancérogène n'a été observé chez le hamster et le chien, mais des tumeurs de la thyroïde ont été observées chez la souris et le rat. L'aminotraiazole induit des effets sévères sur la modification de certains paramètres de reproduction chez le rat.

Il induit quelques effets génotoxiques inconstants *in vitro* mais aucune anomalie *in vivo*.

Le CIRC a classé cet herbicide dans le groupe III des substances inclassables quant à leur cancérogénécité pour l'homme. Il n'y a pas d'effets cancérogènes décrits actuellement. Quelques rares cas d'intoxication aigue (digestive et cutanée) ont été décrits chez l'Homme.

Bentazone

C_{10} H_{12} N_2 O_3 S ou isopropyl 3, 1 H, 3 H benzothiadiazine 2,1,3 one 4 dioxyde 2,2, solide cristallin incolore, soluble dans l'eau (500 mg/L à 20 °C) est un herbicide, employé sur diverses cultures. Très mobile dans le sol, elle a été détectée dans les eaux souterraines. Absorbée essentiellement par les parties vertes de la plante dans le sens acropétal, elle agit en inhibant la photosynthèse de nombreuses dicotylédones et Cypéracées.

La DL50 pour le rat par injection est de 1 100 mg/kg et la DJA est de 0,1 mg/kg/j (OMS-FAO). Compte tenu des incertitudes entourant l'exposition d'origine alimentaire, 1 % de la DJA a été attribuée à l'eau de boisson dont la valeur guide a été fixée à 30 µg/L. Elle n'est ni cancérogène ni génotoxique.

La bentazone s'emploie également en association avec l'atrazine, le bromoxynil, le dichlorprop P, la pendiméthaline.

Chlorates de potassium et de sodium

Voir Chlorates.

Chlorotoluron

Le chlorotoluron (famille des phénylurées) est utilisé comme herbicide de pré ou de début de postlevée. Mobile dans le sol, il se dégrade lentement. Il a été détecté dans l'eau de boisson à des teneurs de l'ordre du µg/L. De faible toxicité, il n'est pas considéré comme génotoxique. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 30 µg/L.

Dérivés chlorophénoxylés

Les dérivés chlorophénoxylés cités ci-dessous sont des herbicides rarement retrouvés dans l'eau de boisson. En cas d'identification, la concentration est de l'ordre de quelques µg/L. Leur potentiel cancérogène pour l'homme n'est pas évalué aussi les valeurs guides ont-elles été établies sur les effets toxiques.

2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique)

Le 2,4-D est utilisé comme herbicide et comme régulateur de croissance des plantes. Les composés commerciaux sont généralement constitués par des sels ou des esters de l'acide. La solubilité dans l'eau du 2,4-D est de 540 mg/L ; son produit de dégradation le 2,4-dichlorophénol est soluble à 4 500 mg/L. D'une façon générale, les esters sont moins solubles que les sels. Le 2,4-D est chimiquement stable mais ses esters sont rapidement hydrolysés. L'action microbienne, la lumière solaire accélèrent sa dégradation dans le sol et dans l'eau. La toxicité aiguë du 2,4-D est modérée ; elle se traduit par une paralysie musculaire et des modifications diastasiques.

L'OMS a indiqué pour le 2,4-D une dose journalière acceptable de 0,3 mg/kg. Les expérimentations n'ont pas mis en évidence d'action cancérogène, mutagène et tératogène.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 30 µg/L.

2,4-DB (Acide 2,4-dichlorophénoxybutanoïque)

L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 90 µg/L.

2,4,5-T (Acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique)

L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 9 µg/L.

2,4,5-TP (Acide 2,4,5- ou Fenoprop trichlorophénoxypropionique)

Le 2,4,5-TP est un herbicide sélectif qui s'utilise avant et après la croissance. Il est utilisé sous forme de sels ou d'esters. Sa solubilité dans l'eau est de l'ordre de 180 mg/L. La littérature ne fait pas état d'intoxications chez l'homme et les résultats concernant les effets mutagènes et cancérogènes sont encore insuffisants pour permettre de porter un jugement.

L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 9 µg/L.

Dichlorprop

L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 100 µg/L.

MCPA (Acide méthyl-trichlorophénoxyacétique)

Le MCPA fait partie des herbicides chlorophénoxylés. Il est utilisé pour les traitements de postlevée. Très soluble et mobile ; il se dégrade facilement, de ce fait il est rarement mis en évidence dans l'eau de boisson. Il n'est pas considéré comme cancérogène ni génotoxique. Les données épidémiologiques sur sa toxicité sont limitées. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 2 µg/L.

MCPB (Acide méthyl, chlorophénoxybutanoïque)

L'OMS n'indique pour l'eau de boisson aucune valeur guide.

MCPP (Acide chlorophénoxypropionique) ou Mécoprop

L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 10 µg/L.

Diuron ou dérivés chlorophenoxiliques

Herbicide de la famille des urées substituées, le diuron est un désherbant très utilisé en France, pour la viticulture notamment. Soluble dans l'eau, il est stable à l'hydrolyse et adsorbé sur les sols avec un temps de demi-vie important (372 jours). Il est fréquemment retrouvé dans les eaux, notamment souterraines.

Par contact cutané ou à l'inhalation il peut induire des irritations. Sa toxicité est considérée comme faible. L'ingestion par une femme d'une dose de diuron de 38 mg par kg de corps n'a pas eu d'effet apparent. Chez les animaux le principal effet est une perte de poids et des anomalies sanguines. Il ne semble pas affecté le système de reproduction chez les animaux alors que certains auteurs annoncent que des effets délétères ont été observés sur le spermatozoïde humain, notamment avec l'un de ses sous-produits de dégradation, la 3,4-dichloro-3,4 aniline (3,4-DCA). Le diuron n'est pas mutagène pour la plupart des microorganismes testés, avec ou sans activation métabolique.

Présents dans les eaux de mer, particulièrement en zones portuaires, il semble induire des effets sur le phytoplancton et donc, probablement, en conchyliculture.

Aucun résiduel dans les aliments n'est disponible dans la littérature.

Glyphosate (et AMPA)

Désherbant total, le glyphosate (ou N- (phosphonométhyl) glycine) est la substance active du produit commercial connu surtout sous le nom de « Roundup », bien que d'autres sociétés commercialisent cette substance active, dans le domaine public depuis 2000. Le glyphosate est le premier pesticide le plus vendu au monde et en France. Il est utilisé dans l'entretien des forêts, pour le désherbage avant ensemencement en agriculture, et comme défoliant. Utilisé également pour détruire les champs de coca en Colombie et dans les pays où la culture des OGM est autorisée (à cause de la résistance de ces OGM), il serait responsable en partie de la dévégétalisation des sols en Argentine et la destruction de partie des forêts tropicales dont des réserves naturelles. Il est également utilisé pour désherber les lacs et étangs.

Pour accroître son passage dans la plante il est préparé sous forme de sel d'isopropylamine et des additifs (tensioactifs) comme la polyoxyéthylène amine sont ajoutés dans la formulation pour améliorer sa fixation sur les plantes.

Le glyphosate est très soluble dans l'eau (12 g/L) mais assez facilement adsorbé sur les sols, ce qui le rend théoriquement assez peu mobile et faiblement contaminant pour les aquifères. Depuis qu'on sait l'analyser, on le trouve pourtant dans de très nombreuses ressources en eau en France et c'est très souvent le plus présent (avec son métabolite AMPA). Il est en fait mobile dans les sols alcalins ou riches en phosphates. Le temps de demi-vie du glyphosate (pur) dans les sols est compris entre 20 et 100 jours selon les sols et les conditions physico-chimiques. Son temps de demi-vie dans l'eau est beaucoup plus réduit (environ 3 jours). Son principal produit de dégradation est l'acide aminométhylphosphonique (ou AMPA).

La toxicité aigue du glyphosate pur est faible, avec une DL50 aux environs de 1 % du poids corporel. Peu d'effets toxiques ont été signalés, sauf une réduction du poids corporel et un accroissement du poids du foie, à hautes doses (3 % du poids corporel) chez la souris mâle. Le glyphosate pur ne présente pas d'effet oncogène chez la souris. De plus, plusieurs études le présentent comme non mutagène et sans effet sur la reproduction des animaux.

Toutefois, il est délicat de tirer des conclusions toxicologiques des nombreuses études menées avec du glyphosate pur, car il semblerait d'après des études récentes que c'est le mélange glyphosate-additif qui est susceptible de poser un problème. Une étude récente en cytotoxicité a, en effet, mis en évidence l'impact des formulations et constituants. Les auteurs signalent diverses atteintes des cellules induites soit par le glyphosate soit par un produit de dégradation soit par un adjuvant. Notons que d'autres travaux ont montré que le glyphosate réagirait avec les nitrites dans l'alimentation pour forme le N-nitrosophosphonométhylglycine, considéré comme possible cancérogène.

Son élimination lors du traitement des eaux destinées à la consommation est effective lors de différentes étapes de traitement, dans des conditions d'exploitation optimisées et maîtrisées. Le glyphosate et l'AMPA présentent une grande réactivité avec l'ozone et peuvent être éliminés totalement. Une coagulation/floculation au chlorure ferrique permet une bonne rétention de ces composés. Par contre, ils ne sont pas éliminés par absorption sur charbon actif.

Isoproturon

L'isoproturon est utilisé comme herbicide systémique contre les graminées annuelles et les mauvaises herbes à larges feuilles. Il se détruit par photo- et biodégradation. Il a été identifié dans les eaux souterraines et de surface. Sa toxicité est faible. Il est considéré comme un cancérogène non génotoxique. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 9 µg/L.

Métolachlor

C_{15} H_{22} $CINO_2$ ou 2-éthyl 6-méthyl N-(1′-méthyl 2′-méthoxy éthyl) chloroacétanilide appartient à la famille chimique des acétanilides. Il se présente sous la forme d'un liquide incolore soluble dans l'eau (530 mg/L à 20 °C) et dans la plupart des solvants organiques. Il est utilisé comme herbicide sélectif de prélevée. Biodégradable, sa persistance d'action dans le sol est de 3 à 4 mois. Toutefois relativement mobile, il peut se retrouver dans les eaux souterraines et de surface. Il n'est pas considéré comme cancérogène ou génotoxique. L'OMS indique pour l'eau de boisson, une valeur guide de 10 µg/L.

Molinate

C_9 H_{17} NOS ou perhydroazépinethioate 1 de S éthyle. Cet herbicide appartient à la famille chimique des dérivés de l'acide carbamique. Il se présente sous la forme d'un liquide clair miscible à la plupart des solvants organiques. Solubilité dans l'eau 880 mg/L à 20 °C. Rapidement absorbé par les racines des plantes, il est très efficace sur Panicum et à un degré moindre sur Typha dans les rizières où il est utilisé. Ce produit peu persistant dans l'eau, dépasse rarement la concentration de 1 µg/L. Il ne semble pas être cancérogène ou mutagène. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 µg/L.

Perméthrine

La perméthrine est un insecticide synthétique, elle fait partie de la famille des pyréthrinoïdes, très largement utilisés pour la protection des cultures et la lutte anti vectorielle. Elle est souvent introduite dans les réservoirs d'eau pour la destruction des larves et pour empêcher le développement des invertébrés aquatiques dans les canalisations. La perméthrine ne s'accumule pas dans les organismes, elle est faiblement toxique pour les mammifères. Le produit technique est constitué d'un mélange d'isomères cis et trans. L'isomère cis, plus toxique que l'isomètre trans, est la forme active. Ce composé n'est pas génotoxique et n'est pas considéré comme présentant un potentiel cancérogène notable. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 µg/L.

Paraquat

Parmi les composés de la famille des dipyridyles, le paraquat (1,1′-diméthyl-4,4′-dipyridylium) est le plus largement utilisé sous forme de dérivés dichlorés ou de diméthylsulfates, solubles dans l'eau. Véhiculé par la sève, il agit sur les parties vertes des plantes en bloquant les processus de respiration et de photosynthèse : il détruit tout ce qui est chlorophyllien mais est sans effet sur les parties ligneuses. Le paraquat s'inactive rapidement dans le sol par adsorption et réaction avec de nombreux cations : sa neutralisation est quasi immédiate. Étant donné sa dégradation rapide dans l'environnement, les risques sont limités. En solution aqueuse et sous l'action des ultraviolets, sa dégradation est accélérée. Ce composé est très toxique pour l'homme ;

de nombreux empoisonnements accidentels ou volontaires doivent lui être reliés (57 décès en France entre 1979 et 1981). La dose létale pour l'homme est de l'ordre de 35 à 45 mg/kg, ce qui correspond à l'ingestion de 14 mL d'une solution à 40 %. Le paraquat n'est pas métabolisé dans l'organisme et s'élimine presque totalement par voie urinaire. Son mécanisme d'action n'est pas encore parfaitement élucidé. Les intoxications aiguës systémiques sont presque toujours consécutives à l'ingestion de l'herbicide, il ne semble pas y avoir d'intoxication par inhalation. Les symptômes sont caractérisés par des troubles gastro-intestinaux, une atteinte rénale, une cytolyse hépatique et des troubles respiratoires ; la mort intervient en raison d'une fibrose progressive et de développements épithéliaux dans les poumons. La littérature ne fait pas état d'action cancérogène, mutagène ou tératogène. L'OMS n'indique pour l'eau de boisson aucune valeur guide.

Propanil

Le propanil est utilisé comme herbicide de contact en postlevée pour la destruction des graminées et des mauvaises herbes à larges feuilles, surtout en riziculture. Peu persistant, il se décompose facilement en 2 métabolites plus toxiques et persistant que le produit initial. Il n'est pas considéré comme génotoxique ni cancérogène. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 μg/L.

Pyridate

Le pyridate est utilisé comme herbicide de contact sur des cultures très variées. Il se dégrade facilement et se rencontre rarement dans les eaux. Il n'est pas considéré comme génotoxique ni cancérogène. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 100 μg/L.

Triazines (atrazine, simazine)

Ces herbicides ont été très largement utilisés dans les exploitations agricoles mais ils sont dorénavant interdits. De ce fait, ils peuvent être retrouvés encore fréquemment dans les eaux drainant des zones rurales. D'une façon générale, bien que peu hydrolysables dans le milieu, ces herbicides sont peu toxiques ; la DL_{50} chez le rat est de 5 g/kg. Les études expérimentales ne semblent pas faire apparaître d'actions carcinogène, tératogène ou mutagène. L'action herbicide se développe par inhibition du processus photosynthétique. Ces produits ont été utilisés aussi comme algicides ; cependant, leur emploi pour le traitement des réserves d'eau utilisables pour l'irrigation ou la production d'eau potable est interdit. La dose journalière acceptable pour l'atrazine est estimée à 0,0215 mg/kg.

L'application de la réglementation française qui fixe une valeur limite de 0,1 μg/L par substance individualisée pouvant conduire, dans le cas de l'atrazine et de la simazine, à une mauvaise utilisation de la ressource, la position sanitaire à adopter vis-à-vis de ces composés est précisée dans une circulaire (DGS/PGE/1D n° 717 du 12 avril 1990). Le Conseil supérieur d'hygiène publique de France a estimé qu'une eau de distribution contenant entre 0,1 et 2 μg/L d'atrazine ou entre 0,1 et 17 μg/L de simazine (cette valeur ayant été adoptée par des groupes de travail de l'OMS) pouvait être consommée sans qu'il en résulte de risque pour la santé des populations. Toutefois, dans sa dernière publication, l'OMS recommande pour l'eau destinée à la consommation humaine, une valeur guide de 2 μg/L pour l'atrazine et 2 μg/L pour la simazine. Une enquête réalisée en France par le ministère de la Santé a

montré que 62,4 % des eaux brutes et 74,4 % des eaux distribuées suivies ont présenté en 1991 une teneur maximale en atrazine de 0,1 µg/L.

Les triazines sont très diversement retenues par les procédés de traitement des eaux, en raison de leurs propriétés physico-chimiques qui rendent leur élimination difficile. La dégradation biologique et la rétention sur charbon actif conduisent à des résultats significatifs, la chloration est inefficace. L'ozonation est efficace mais transforme les triazines en sous-produits dont la pertinence conduit à les considérer comme pesticides.

Trifuraline

La trifuraline est un herbicide utilisable sur diverses cultures. Faiblement soluble, elle est photo et biodégradable. Ses produits de dégradation peuvent contaminer les eaux. Ce composé, à l'état pur, n'est pas mutagène toutefois une mutagénécité a été révélée lorsqu'elle est contaminée par des composés nitrosés. La trifuraline technique non purifiée peut contenir des composés cancérigènes ce qui devrait conduire à en interdire l'emploi. L'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 20 µg/L.

La trifuraline s'emploie également en association avec le chlortoluron.

*p*H

Le *p*H d'une eau représente son acidité ou son alcalinité ; à *p*H 7 une eau est dite neutre, à un *p*H inférieur à 7 une eau dite acide et à un *p*H supérieur à 7, elle est dite basique. Étant donné le pouvoir tampon de l'eau et sauf dans le cas de rejets industriels particuliers, il est rare que le *p*H soit une contre-indication à la potabilité. C'est cependant l'un des paramètres parmi les plus importants de la qualité de l'eau. Il doit être étroitement surveillé au cours de toutes opérations de traitement.

Le *p*H des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés, il varie habituellement entre 7,2 et 7,6. C'est d'ailleurs à l'intérieur de ces deux valeurs que se situe généralement le *p*H des eaux distribuées aux collectivités.

Une enquête du ministère de la Santé réalisée en France en 1994-1995 indique que pour la métropole, sur les 27 719 unités de distribution qui alimentent l'ensemble de la population française (environ 57 millions d'habitants), 6 076 unités distribuent une eau de *p*H inférieur ou égal à 6,5 et/ou de conductivité inférieure ou égale à 150 µS/cm. Ces unités de distribution sont réparties sur 70 départements et alimentent environ 3,7 millions d'habitants. Dans les départements d'outre-mer, la majorité des unités de distribution (77 %) délivrent des eaux naturellement peu minéralisées. La population concernée est, au total, d'environ 1,1 million d'habitants (soit 78 % de la population). D'une façon générale, les eaux très calcaires ont un *p*H élevé et celles provenant de terrains pauvres en calcaires ou siliceux ont un *p*H voisin de 7 et quelquefois un peu inférieur (environ 6).

C'est aussi le cas dans les zones supérieures de certains ruisseaux lorsqu'une minéralisation suffisante ne s'est pas encore développée. Les eaux de certaines régions volcaniques peuvent être acidifiées par de l'acide sulfurique. En pratique, les eaux ayant un *p*H inférieur à 6 ou supérieur à 8

sont rares. Des *p*H supérieurs à 8,5 ne s'observent généralement que dans les eaux stagnantes (marais, étangs, barrages) où la réaction ionique est influencée par la photosynthèse de la végétation et la nature chimique des fonds avec déplacement de l'équilibre carbonique.

Le *p*H est un élément important pour définir le caractère agressif ou incrustant d'une eau. Il intervient dans ces phénomènes complexes avec d'autres paramètres comme la dureté, le dioxyde de carbone, l'alcalinité et la température. Un *p*H inférieur à 7 peut conduire à la corrosion du ciment ou des métaux des canalisations avec entraînement de plomb par exemple. Un *p*H élevé peut conduire à des dépôts incrustants dans les circuits de distribution. De plus, au-dessus de *p*H 8, il y a une diminution progressive de l'efficacité de la décontamination microbienne par le chlore. Par ailleurs, la chloration diminue le *p*H.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS ne fixe pas de valeur mais précise qu'un faible *p*H peut poser des problèmes de corrosion et un *p*H élevé entraîner des problèmes de goût et de consommation accrue de savon ; elle recommande un *p*H inférieur à 8 pour une bonne désinfection par le chlore. Les directives du Conseil des communautés européennes précisent que l'eau ne doit pas être agressive et indiquent comme niveau guide : $6,5 \leqslant pH \leqslant 9,5$; elles rappellent que les valeurs du *p*H ne s'appliquent pas aux eaux conditionnées. La réglementation française précise que le *p*H de l'eau potable doit être supérieur ou égal à 6,5 et inférieur ou égal à 9 ; cette obligation ne s'applique pas aux eaux conditionnées non minérales.

Pour les eaux de piscine, il est intéressant de les ajuster au *p*H des larmes (7,4) ; la réglementation française indique que le *p*H doit être compris entre 6,9 et 8,2.

Le *p*H joue un rôle important dans les traitements de floculation et de coagulation. La correction des tendances agressives de l'eau s'effectue soit par aération, soit par adjonction de carbonate de calcium, soit par filtration sur des alcalino-terreux.

La valeur du *p*H compatible avec la vie des poissons est comprise entre 5 et 9. Cependant, pour la plupart des espèces aquatiques, la zone de *p*H favorable se situe entre 6 et 7,2. Toutefois, cette valeur ne doit pas être séparée de celle des autres paramètres (température, oxygène dissous, salinité, etc.). En dehors des problèmes de pollution chimique, les eaux très alcalines peuvent présenter des peuplements riches et diversifiés.

Voir aussi Anhydride carbonique.

Phénols (indice phénol)

Sous le terme de phénols (indice phénol), on désigne habituellement un ensemble de composés hydroxylés du benzène évalués par une méthode de dosage choisie, dont l'étalon est le phénol (cf. § A-10.25).

La présence de phénols dans l'eau a, le plus souvent, pour origine les pollutions industrielles (usines chimiques, cokeries, industrie papetière, raffineries, pétrochimie, polymères, etc.). Ces produits s'oxydant faiblement, ils se

fixent peu et filtrent facilement. Les revêtements bitumineux des canalisations et des réservoirs peuvent, lors des réparations et des mises en service, introduire dans le réseau des quantités de phénols généralement limitées. La décomposition des produits végétaux, comme la lignine, ainsi que les eaux résiduaires industrielles de cellulose peuvent conduire à l'émission de produits phénoliques. Ces substances peuvent aussi apparaître par dégradation des produits phytosanitaires (pesticides, fongicides, herbicides, etc.). Enfin, d'une façon plus limitée, il peut s'agir de pollution humaine. En effet, la quantité des dérivés hydroxylés rejetés journellement par l'organisme humain est évaluée de 200 à 300 mg. Ces produits phénoliques évoluent d'ailleurs assez rapidement sous l'influence de la biodégradabilité, variable selon les molécules. Ainsi, dans les eaux du Rhin, après 2 jours d'auto-épuration, la concentration en phénols décroît de 12-13 à 8-10 μg/L en été et de 100 à 40 μg/L en hiver. D'une façon générale ils ne se retrouvent qu'en quantités très faibles et, de ce fait, leur toxicité est limitée, s'ils ne sont pas ingérés pendant de longues périodes.

Lorsqu'on pratique la décontamination microbienne par le chlore, il se produit, avec les phénols et les acides humiques, des chlorophénols dont l'inconvénient principal est leur saveur extrêmement désagréable et très persistante. Dans les eaux d'alimentation, cette gêne peut être limitée par l'oxydation par l'ozone ou la fixation sur charbon actif. En fait, pour éviter le problème de la saveur de tous ces produits, il conviendrait que les phénols totaux contenus dans l'eau et susceptibles d'être chlorés ne dépassent pas 0,1 μg/L. En l'absence de chloration et de chlorophénols, une teneur plus élevée de phénols pourrait être tolérée en vérifiant le niveau de toxicité du composé phénolique.

D'autres phénols que les chlorophénols doivent être parfois recherchés spécifiquement. C'est le cas des nitrophénols qui servent de précurseurs de synthèse de plusieurs composés pharmaceutiques, pesticides, peptides, colorants, plastiques etc., et qui peuvent donc être introduits dans l'environnement aquatique par les eaux usées industrielles. Quelques études toxicologiques ont été réalisées sur ces phénols, notamment le nitro-4 phénol et le nitro-2 phénol, le premier étant plus dangereux que le second. Les effets génotoxiques et cancérigène des nitrophénols n'ont pas été étudiés à notre connaissance.

Un autre groupe de phénols fait l'objet d'attention particulière, les alkylphénols. Ils sont en effet très fréquemment détectés dans les eaux naturelles et sont reconnus comme perturbateurs endocriniens (cf. § Perturbateurs endocriniens, ci-dessus).

Les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme teneur des phénols (indice phénol) dans l'eau destinée à la consommation humaine une concentration maximale admissible de 0,5 μg/L. L'ancienne réglementation française prévoyait que la teneur en phénols devait être telle que les composés ne soient pas détectables organoleptiquement après ajout de chlore. Elle précisait qu'en cas de détection, la concentration en phénols, exprimés en indice phénol C_6H_5OH, devait être inférieure ou égale à 0,5 μg/L. Les réglementations actuelles (européenne et française) n'intègrent pas ce paramètre dans les limites et références de qualité.

Les poissons, en particulier les espèces à chair grasse (anguilles, saumons, truites), accumulent les phénols et peuvent en contenir jusqu'à 30 mg/kg. Ils sont alors impropres à la consommation.

Dans les eaux résiduaires, les phénols peuvent être séparés par extraction liquide-liquide, oxydés par le chlore ou l'ozone ou détruits par traitement biologique.

Voir aussi Chlorophénols, Alkylphénols.

Phosphore (composés phosphorés)

Les phosphates (cf. § A-7.40) font partie des anions facilement fixés par le sol ; leur présence naturelle dans les eaux est liée aux caractéristiques des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique. Des teneurs supérieures à 0,5 mg/L doivent constituer un indice de pollution. Dans les zones phosphatières, la plupart des eaux contiennent des quantités quelquefois importantes de phosphates, souvent associés à des fluorures. Dans le cas du traitement des eaux brutes, les phosphates peuvent perturber l'efficacité de la coagulation et de l'adoucissement.

Dans les eaux de puits, la présence de phosphates peut avoir pour origine une infiltration en provenance de fosses d'aisance ou de dépôts de fumier (purin). Les eaux de surface ou de nappes peuvent être contaminées par des rejets industriels (industries agro-alimentaires, ateliers de traitement de surface, laveries) et domestiques ou par le lessivage des terres cultivées renfermant des engrais phosphatés ou traités par certains pesticides.

Les phosphates peuvent aussi provenir des traitements de vaccination des eaux industrielles contre la corrosion et l'entartrage ou des adjuvants actifs ajoutés aux détergents. Ceux-ci participent à la diminution de la dureté de l'eau, facilitent l'émulsion des huiles et des graisses et maintiennent les salissures en suspension dans l'eau ; l'alcalinité du milieu, modifiée, favorise l'action détersive.

Les phosphates ont longtemps échappé au traitement des stations d'épuration biologique classiques et de ce fait, se retrouvaient dans les rejets. Le remplacement des phosphates par des complexants organiques (NTA) et l'intégration dans les stations d'épuration a nettement diminué les rejets en phosphates.

La déphosphatation biologique par ajout d'une zone anaérobie en tête d'un système à boues activées a donné lieu, en effet, à un certain nombre de développements techniques. Les traitements physico-chimiques de coprécipitation peuvent également éliminer les phosphates.

Le phosphore (cf. § A-9.7) peut se trouver sous différentes formes oxydées ; sous la forme acide, on trouve les acides méta (HPO_3), pyro ($H_4P_2O_7$) et ortho (H_3PO_4). En milieu aqueux, les acides méta et pyro tendent vers une forme plus stable : l'orthophosphate. Pratiquement, c'est sous cette forme qu'on le rencontre dans les eaux superficielles dont le *p*H est compris entre 5 et 8.

La charge corporelle de l'homme standard est d'environ 700 g ; en raison d'une élimination constante par les urines, ses besoins quotidiens sont de

1 à 3 g. L'apport alimentaire est élevé du fait de la teneur significative en phosphore des aliments (viande : 1,8 g/kg ; poisson : 2,5 g/kg ; pain, lait : 0,9 g/kg ; légumes verts : 0,6 g/kg ; fruits : 0,3 g/kg).

À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme teneur du phosphore dans l'eau destinée à la consommation humaine un niveau guide de 0,4 mg/L et une concentration maximale admissible de 5 mg/L exprimée en P_2O_5. L'ancienne réglementation française retenait cette même valeur limite de 5 mg/L.

Les réglementations actuelles ne retiennent pas ce paramètre.

Le phosphore joue un rôle important dans le développement des algues ; il est susceptible de favoriser leur multiplication dans les réservoirs, les grosses canalisations et les eaux des lacs, où il contribue à l'eutrophisation, phénomène évolutif au cours duquel le milieu s'enrichit en matières nutritives d'une manière excessive, et par voie de conséquence, en algues et phytoplancton. Il en résulte une véritable dégradation, qui peut devenir irréversible. Les éléments responsables de cet enrichissement sont essentiellement le phosphore et l'azote (un individu élimine environ 1,5 à 3 g d'anhydride phosphorique et 10 à 20 g d'azote par jour), mais le potassium, le magnésium, les sulfates et certains oligo-éléments peuvent y prendre une part active. Dans les eaux usées, la part des rejets humains ne représente que 30 à 50 % du phosphore total (entre 5 et 20 mg/L), le reste provenant des produits de nettoyage. Il est considéré que 1 mg de phosphore peut contribuer à l'élaboration de 70 à 80 mg de matières organiques. Mais il est difficile de fixer des limites de concentration au-delà desquelles l'eutrophisation est certaine, car des facteurs morphométriques, hydrologiques, optiques et climatiques entrent en jeu. Les sources d'éléments « eutrophisants » peuvent être diffuses (apports terrigènes ou éoliens) ou ponctuelles. Dans ce cas, il s'agit surtout des déchets domestiques et industriels qui contiennent, parfois en quantités très importantes, des matières organiques fermentescibles. L'effet de ces rejets est d'autant plus marqué s'ils sont pratiqués dans des zones fermées (étangs côtiers, estuaires, rades) peu propices à un renouvellement des eaux et où sont créées, dans le benthos, des conditions anaérobies.

Les caractéristiques principales de l'eutrophisation sont :

– la multiplication des algues et du plancton qui réduit le passage de la lumière, accroît la consommation d'oxygène et s'accompagne d'une modification profonde de la faune, tant en quantité qu'en qualité. L'évolution peut aller de l'élimination de certaines espèces (les espèces nobles disparaissent alors au profit d'autres indésirables) jusqu'à la cessation de la vie aquatique ;

– la modification des paramètres physico-chimiques du milieu. Suivant le développement de la situation, on passera d'un système oligotrophe à un système mésotrophe pour aboutir à un système eutrophique caractérisé par une anaérobiose généralisée.

Quelles qu'elles soient, ces modifications ont une incidence, directe ou indirecte, sur l'homme. La dégradation des qualités organoleptiques de l'eau (odeur, saveur, turbidité, couleur...) bouleverse les conditions d'utilisation, ne serait-ce qu'en raison de son aspect inesthétique (putréfaction).

Pour les usages industriels, la quantité de phosphates doit être d'autant plus limitée que la pression des générateurs de vapeur est plus élevée. Dans la fabrication de la bière, la présence de phosphates peut modifier l'arôme et diminuer la résistance de la boisson à l'action bactérienne. Les phosphates minéraux naturels contiennent certains radioéléments tels que le thorium, l'uranium et son descendant le radium 226 dans des proportions de l'ordre du becquerel par gramme de minerai. Approximativement 1 % du radium 226, 60 à 80 % de l'uranium présent dans les minerais sont dissous par le traitement acide au cours de la fabrication des engrais ; la majeure partie du radium reste dans les gypses.

Phtalates ou esters phtaliques

Ces produits sont de faible volatilité et très peu solubles dans l'eau. Ils jouent un rôle important comme plastifiants des résines cellulosiques et vinyliques qui peuvent en contenir jusqu'à 60 %. Ils sont aussi largement utilisés dans les peintures, les laques, les encres, etc.

Il existe de nombreux esters phtaliques dont la majorité sont autorisés dans les emballages alimentaires ; de ce fait, les aliments constituent la principale source d'exposition.

Du fait de leur très large utilisation, ils sont très fréquemment retrouvés dans les eaux superficielles à des teneurs de l'ordre de 500 à 2000 ng/L (cf. § A-10.26). L'oxydation des substances humiques lors de la décontamination microbienne est aussi susceptible de donner naissance à des phtalates. Il est à noter que les teneurs en phtalates dans les retombées atmosphériques sont respectivement de 2000 fois et 100 fois plus élevées que celles relevées pour les organophoshorés et les organochlorés.

D'une façon générale, ces produits n'ont pas de toxicité aiguë pour l'homme mais sont de puissants inducteurs enzymatiques, comme le phtalate de dioctyle. Des études de toxicité à court terme ont montré la prolifération de péroxysomes hépatiques avec une augmentation des modifications histopathologiques. Au cours des études à long terme par voie orale, des carcinomes hépatocellulaires ont été identifiés, d'où une suspicion d'être cancérogène pour l'homme. La génotoxicité du DEHP n'a pas été démontrée à l'exception de l'induction d'une aneuploïdie et d'une transformation des cellules. Tenant compte de la mise en évidence de la prolifération des péroxysomes du foie chez le rat et de la présence de carcinomes hépatocellulaires, l'OMS indique pour l'eau de boisson une valeur guide de 8 µg/L.

Plomb

En dehors des zones de gisements plombifères, le plomb est un constituant naturel, largement réparti dans la croûte terrestre à des teneurs de l'ordre de 13 mg/kg. Les sols acides sont généralement moins riches en plomb que les sols alcalins. Il peut être présent sous forme de carbonates (cérusite), de phosphates (pyrophosphite), mais surtout de sulfure (galène). Ce dernier sel,

très peu soluble, peut cependant se transformer en hydroxyde ou en carbonate, après avoir été oxydé en sulfate. Il a été estimé qu'environ 160 000 tonnes de plomb sont ainsi libérées annuellement dans le monde ; seulement 1/6 de ce plomb est sous forme dissoute, le reste est associé aux matières en suspension. De ce fait, la majorité du plomb véhiculé par les eaux de surface se retrouve dans les sédiments. La nature des matières organiques édaphiques joue aussi un rôle important dans la concentration en plomb des sols. Cependant, les végétaux absorbent peu le plomb tellurique et le métal ne se concentre pas au long de la chaîne alimentaire. La désintégration du radon donne du plomb 210 dont la période radioactive est de 22 ans.

L'eau de mer contient en moyenne 0,03 μg de plomb par litre mais, dans les zones côtières, les eaux superficielles peuvent en renfermer 10 fois plus. La quantité de plomb introduite dans les océans à partir des cours d'eau a été estimée à environ 17 000 t/an (Patterson). Les eaux de pluie peuvent présenter des teneurs significatives (5 μg/L). Généralement, la concentration des eaux de surface non contaminées ne dépasse pas une dizaine de microgrammes par litre ; la présence de plomb à des teneurs plus élevées, qu'il soit solubilisé ou fixé sur les matières en suspension, doit être reliée à une cause externe. Ce métal est en effet si répandu et si utilisé dans l'industrie que les possibilités de pollution sont extrêmement nombreuses et variées. Les activités humaines (emploi de plomb tétraéthyl dans les carburants comme antidétonant remplacé aujourd'hui par d'autres additifs organiques, fusion des minerais, utilisation de combustibles fossiles) entraînant la formation d'aérosols plombifères constituent, actuellement, la principale source de plomb dans l'hydrosphère. Les émissions de plomb liées aux activités humaines ont été évaluées à environ 12 000 tonnes par an avant la suppression du plomb dans les carburants.

Bien que les eaux de distribution à la sortie des usines de traitement respectent le plus souvent les concentrations autorisées en plomb, il arrive que des dépassements soient observés au robinet du consommateur (cf. § A-7.41). Les causes peuvent être liées à la présence de tuyaux en plomb, très utilisés autrefois, ou de brasures au plomb et à l'étain employées pour la liaison des tuyaux en cuivre. En effet, le flux utilisé dans le brasage, de par son action souvent corrosive, constitue un électrolyte favorisant la corrosion des brasures. Il est aussi à noter que le plomb autrefois employé sous forme de stéarate de plomb pour la stabilisation de certaines tuyauteries en polychlorure de vinyle, peut passer dans l'eau par lixiviation.

Il a longtemps été admis qu'une eau hydrogénocarbonatée calcique à l'équilibre calco-carbonique assurait une bonne protection contre les relargages de plomb ; des études récentes ont montré que cette conception était discutable et que le phénomène est beaucoup plus complexe. La solubilité du plomb dans l'eau potable est régie par la cinétique des réactions et par des facteurs reliés aux conditions d'équilibre du système. Dans le cas des eaux très peu minéralisées pauvres en calcium et en hydrogénocarbonates, la passivation du plomb ne peut être obtenue que par formation d'une couche d'hydroxyde de plomb, d'où la nécessité de porter et de maintenir le *p*H à une valeur minimum de 8,5. Pour les eaux hydrogénocarbonatées calciques, la passivation du plomb ne peut être obtenue que par formation d'une couche d'hydroxycarbonate de plomb, d'où la nécessité d'être en présence d'une quantité suffisante d'ions hydroxyde, c'est-à-dire d'un *p*H suffisam-

ment élevé. Dans la pratique, pour éviter les problèmes d'entartrage des canalisations, ces eaux sont souvent distribuées à l'équilibre calco-carbonique. Cependant, étant donné leur *p*H de saturation, souvent inférieur à 7,5, la concentration en ions hydroxyde n'est pas suffisante pour former une pellicule passivante d'hydroxycarbonate de plomb. Ceci explique certaines teneurs importantes en plomb observées avec des eaux calciques ayant stagné dans des canalisations en plomb, alors qu'en principe, les sels de plomb sont plus solubles dans l'eau douce que dans l'eau dure.

La chimie du plomb dans l'eau étant de nature très complexe, d'autres paramètres sont à considérer. La température de l'eau entraîne une solubilité du plomb plus importante à chaud qu'à froid et interfère aussi sur le *p*H. Le temps de stagnation a aussi son importance : en pratique, il a été estimé que la quantité maximale de plomb susceptible d'être dissoute est généralement atteinte après 12 heures de contact. Il conviendra aussi de tenir compte de la surface de contact, c'est-à-dire du diamètre des canalisations ainsi que de leur âge. Les canalisations de moins de cinq ans présentent le maximum de risque. Avec le temps, le dépôt d'hydroxycérusite est généralement formé, même en présence d'une eau ayant un faible effet protecteur. La solubilité du plomb peut aussi être induite par des courants électriques, notamment quand les tuyauteries sont utilisées comme prise de terre. Il faut aussi signaler l'interférence des ions ferriques qui induisent une mise en solution du plomb, méthode utilisée pour la récupération du plomb des minerais. Enfin, il a été mis en évidence le rôle des vibrations sur les canalisations, entraînant un décollement de microparticules d'hydroxycarbonate de plomb et celui des composés acides des peintures au minium utilisées pour la protection des parois internes des réservoirs métalliques, susceptibles d'augmenter considérablement la solubilité du plomb.

La prévention consiste à limiter la corrosion du plomb ainsi que sa solubilité. Une eau à forte teneur en carbone minéral peut dissoudre plus de plomb qu'une eau à faible teneur ; pour obtenir le minimum de solubilité en plomb, il faut un *p*H compris entre 8,8 et 10 et une teneur en carbone inorganique dissous comprise entre 1 et 8 mg/L.

Dans le cas des eaux peu minéralisées, le *p*H pourra être relevé au-dessus de 8,5 mais cette opération peut s'avérer délicate quand les eaux sont très peu tamponnées. Il est aussi possible de rechercher un *p*H d'équilibre entre 8 et 8,5 en reminéralisant avec du carbonate de calcium ou encore d'additionner l'eau d'inhibiteurs de corrosion (polyphosphates, orthophosphate de zinc). Cependant, du fait de résultats contradictoires, il a été retenu que les polyphosphates, jouant un rôle de complexant, peuvent déstabiliser les dépôts existants dans les conduites anciennes et entraîner ainsi une élévation de la teneur en plomb et des problèmes de turbidité. Par contre, si les conditions conduisent à une hydrolyse des polyphosphates, les phosphates formés auront un rôle protecteur. La meilleure protection serait obtenue en utilisant un phosphate de zinc sans que soit toutefois éliminé le risque de précipitation d'un hydrocarbonate de zinc qui conduirait alors à une turbidité significative.

Dans le cas des eaux riches en calcium et dont le *p*H d'équilibre est inférieur à 7,5, deux cas sont à considérer. Si ces eaux sont naturellement riches en calcium, le *p*H d'équilibre calco-carbonique pourra être relevé entre 8 et 8,5 en décarbonatant l'eau à la chaux. L'ajout de phosphate ne

présente pas d'intérêt du fait de la formation de phosphate de calcium, de même que l'adoucissement de l'eau qui renforce l'action corrosive vis-à-vis du plomb. Si les eaux sont riches en calcium après un traitement de minéralisation, il conviendra d'ajuster le *p*H d'équilibre calco-carbonique pour qu'il soit supérieur à 7,5. D'une façon générale, la solution la plus efficace sera de remplacer les canalisations en plomb aussi bien du réseau public que privé et d'éviter les brasures au plomb. Une autre mesure de prévention consiste à éviter de consommer l'eau du premier jet, après une période de stagnation.

La meilleure solution consiste à éliminer tout élément en plomb ou à base de plomb du réseau de distribution. C'est ce qu'imposent les réglementation européenne et française pour les réseaux collectifs.

L'action toxique du plomb était déjà bien connue des Romains (Vitrinus). Il faut noter que depuis l'Antiquité, le plomb étant largement utilisé dans les poteries vernissées et pour la fabrication des tuyauteries de distribution d'eau, il en est résulté de nombreuses intoxications d'origine hydrique. Toutefois, l'intoxication chronique, de loin la plus fréquente, a surtout une origine professionnelle, l'intoxication alimentaire étant beaucoup plus rare. L'eau n'est d'ailleurs pas la seule origine du plomb alimentaire. En dehors de la teneur des aliments proprement dits, ont été souvent cités pour être à l'origine du plomb absorbé : l'air, certaines boissons (vins, whisky), les poteries artisanales mal vernissées, les boîtes de conserves soudées à l'étain mélangé au plomb, etc. dont un exemple caractéristique d'intoxication serait la disparition de l'explorateur J. Franklin. Des enquêtes récentes ont montré une recrudescence des intoxications au plomb chez les enfants ayant absorbé des écailles de peinture, séduits par leur goût légèrement sucré. En fait, bien que l'interdiction de l'utilisation de la céruse dans les peintures date de 1948, il existe encore de nombreuses habitations vétustes dont les parois ont été revêtues de peintures renfermant ce composé.

Le saturnisme se traduit par des troubles cliniques, des anomalies biologiques et des altérations histopathologiques variées. Il est influencé par de multiples facteurs et principalement par l'action du plomb comme inhibiteur enzymatique. Il inhibe notamment cinq des enzymes nécessaires à la synthèse de l'hème de l'hémoglobine dans les érythroblastes médullaires, en particulier l'acide γ-aminolévulinique déhydrase (ALA-D), l'hème-synthétase (ou ferrocatalase) et la coproporphyrinogène-décarboxylase. Le plomb diminue également la durée de vie des globules rouges par altération de la membrane. Ces différents effets contribuent au développement d'une anémie normochrome normocytaire. Chez le sujet adulte, le passage du plomb ionisé au travers de l'épithélium entéral est faible (5 %) ; il est limité par la présence d'ions calcium. Chez l'enfant, cette absorption entérale est 10 à 20 fois plus active, d'où une intoxication plus sévère (douleurs abdominales, constipation, encéphalopathie avec baisse des performances aux tests psychométriques, déficiences intellectuelles, syndrome d'hyperexcitation, stagnation de la courbe de croissance, anémie). Le plomb traverse facilement la barrière placentaire et s'accumule dans l'os fœtal. Il ne semble pas être tératogène pour l'espèce humaine ; par contre, il serait responsable d'une élévation de l'incidence des fausses-couches et d'une fœtotoxicité. Les femmes enceintes, les fœtus, les nouveaux-nés, les enfants, les individus por-

teurs d'une affection impliquant un accroissement de l'apport hydrique ou un traitement par dialyse sont probablement les groupes les plus vulnérables ou les plus sensibles à l'action toxique du plomb. Il faut noter que l'habitude de consommer des aliments ou des boissons concentrés ou déshydratés puis dilués avec de l'eau du robinet peut conduire chez l'enfant de 6 mois à une absorption de plomb correspondant à la moitié de celle de l'adulte. Il a pu être estimé que l'absorption alimentaire chez l'enfant de 2 ans pouvait atteindre 100 μg/jour. Le plomb étant susceptible de s'accumuler dans l'organisme, le danger n'est donc pas seulement lié à l'absorption d'une dose toxique, mais à une accumulation de doses considérées séparément comme non toxiques. Le plomb se fixe principalement sur le squelette (90 % chez l'adulte) où non mobilisable, il est en étroite dépendance avec le métabolisme calcique (hydroxyapatite) ; il existe cependant une élimination biologique (fèces : 20 % ; urines : 75 %).

Pour la population en général, l'inhalation de plomb atmosphérique ne contribuerait que relativement peu à la fixation de ce métal dans l'organisme ; ceci, contrairement à l'ingestion qui varie suivant les habitudes alimentaires et en fonction de la teneur en plomb des eaux d'alimentation. En 1972, le Comité d'experts FAO/OMS a fixé provisoirement pour l'adulte une dose hebdomadaire tolérable de 3 mg de plomb ; aucune valeur n'a été fixée pour les enfants. Des études pratiquées dans différents pays donnent à penser que l'apport oral quotidien de plomb alimentaire chez les adultes varie assez largement entre 100 et 500 μg. En fait, l'évaluation de l'exposition au plomb est délicate ; aussi, un groupe de travail de l'OMS a estimé que le contrôle des quantités absorbées à partir de différentes sources était discutable car les mesures étaient susceptibles d'être entachées de multiples erreurs éventuellement cumulatives. Il a semblé préférable de retenir pour l'évaluation de l'absorption du plomb une estimation de la charge corporelle non squelettique (charge des tissus mous) à partir de la concentration du plomb dans le sang. Chez les sujets non exposés professionnellement, la plombémie varie selon l'âge, le sexe, le lieu de résidence et l'alimentation. Les valeurs habituelles se situent entre 100 et 250 μg/L de sang chez l'homme et entre 100 et 150 μg/L chez la femme, et le niveau limite recommandé est de 300 μg/L. Or, des études ont montré que chez la femme enceinte et l'enfant, une consommation d'eau ayant une teneur de 100 μg de plomb par litre conduisait à une élévation de la plombémie de l'ordre de 40 à 50 μg/L. Bien que la dispersion des concentrations sanguines du plomb soit importante, l'association entre les teneurs en plomb de l'eau et du sang est statistiquement significative, mais la relation n'est pas linéaire.

Dans l'état actuel des connaissances, étant donné que le plomb ne constitue pas un élément essentiel pour l'organisme humain, rien ne s'opposerait à fixer une teneur égale à zéro, mais cette attitude serait peu réaliste. L'OMS, dans ses dernières recommandations, indique comme valeur guide 0,01 mg/L et précise que toutes les eaux ne pourront certes satisfaire à cette valeur immédiatement mais qu'en attendant, toutes les mesures visant à réduire l'exposition totale au plomb devraient être mises en œuvre (lutte contre la corrosion).

Les anciennes directives du Conseil des communautés européennes fixaient pour les eaux superficielles destinées à la production d'eau alimen-

taire un niveau guide de 0,05 mg/L, et pour les eaux destinées à la consommation humaine, une concentration maximale admissible de 0,05 mg/L. En outre, il était précisé que si l'échantillon est prélevé directement ou après écoulement et que la teneur en plomb dépasse fréquemment ou sensiblement 0,1 mg/L, des mesures appropriées doivent être prises afin de réduire les risques d'exposition du consommateur. L'ancienne réglementation française retenait cette même valeur de 0,05 mg/L.

Cependant, si l'on définit l'effet toxique critique comme étant la modification biologique la plus sensible et la plus spécifique en dehors des variations physiologiques acceptables, il est possible que dans le cadre de la médecine préventive et en raison des autres sources d'exposition (air, alimentation), la concentration de 50 µg/L ne puisse pas apporter une marge suffisante de sécurité, en particulier pour le fœtus, le nouveau-né et l'enfant.

Par ailleurs, en France, depuis 1980, le saturnisme infantile est devenu un problème de santé publique (500 cas ont été dépistés et traités en 5 ans dans la région parisienne).

La Commission chargée de la révision de la directive du Conseil des communautés européennes s'est donc orientée vers une diminution de 50 µg à 10 µg/L de la concentration maximale admissible en plomb dans l'eau destinée à la consommation humaine. Comme cette nouvelle valeur implique nécessairement le remplacement des canalisations et accessoires en plomb ainsi que d'importants investissements, la nouvelle réglementation européenne et française a imposé une réduction progressive de la limite de qualité de 50 à 25 µg/L (entre le 25/12/2005 et le 24/12/2013), puis de 25 à 10 µg/L (à partir du 25/12/2013).

En agriculture, certaines variétés de plantes ont une grande tolérance pour le plomb qu'elles concentrent à partir du sol ; celui-ci possède en effet une capacité non négligeable de fixer le plomb, en formant des complexes avec les substances humiques.

La vie aquatique peut être perturbée à partir de 0,1 mg/L ; des effets toxiques peuvent se manifester sur le poisson à partir de 1 mg/L. Toutefois, l'action toxique est variable selon les espèces et le degré de minéralisation de l'eau.

La formation de dérivés alkylés du plomb obtenus dans des conditions expérimentales n'a pas encore été mise en évidence par l'action des organismes aquatiques.

Plutonium

Découvert par Seaborg en 1941, le plutonium, deuxième élément de la série des actinides transuraniens, est un métal dur et argenté de densité 19,8 qui se transforme au contact de l'air en oxyde de plutonium PuO2. On peut le trouver en solution sous cinq états d'oxydation : III, IV (état prépondérant et le plus stable), V, VI et VII. L'état VII est rencontré à forte basicité en présence d'oxydants.

Parmi les 15 isotopes connus du plutonium, tous radioactifs, les principaux sont émetteurs alpha, notamment Pu 239 le plus abondant et de période 24

130 ans, Pu 238 de période 87,7 ans et Pu 240 de période 6 567 ans. Pu 241 de période 14 ans est émetteur béta à 99,99%. Le plutonium est classé dans la catégorie de radiotoxicité 1 (le niveau le plus élevé est le niveau 1 sur 4 niveaux) (a, b, c).

La dissémination du plutonium dans l'environnement est due aux essais d'armes nucléaires atmosphériques et souterrains entre 1945 et 1980, aux rejets d'installations nucléaires (Rivière Savannah aux USA, Trombay en Inde, La Hague et Marcoule en France, Sellafield en Angleterre) et aux accidents (sous-marins, satellites alimentés en électricité d'origine nucléaire, 2 avions B52 à Palomares (Espagne) et à Thulé (Groenland) et le réacteur de Tchernobyl).

L'origine du plutonium peut être déterminée par les rapports isotopiques. La mobilité du plutonium, qui dépend de son degré d'oxydation, est faible (adsorption sur les particules argileuses, formation de complexes plus ou moins insolubles avec les carbonates, les acides humiques).

Actuellement, les rejets les plus importants sont dus aux usines de retraitement du combustible usé, et les efforts des exploitants conduisent à une diminution des rejets, donc à des teneurs dans l'environnement en diminution.

L'inhalation de particules de plutonium constitue une source d'incorporation et d'irradiation du poumon, principal organe de rétention. Le transfert au sang dépend du diamètre des particules, de la surface spécifique et de la solubilité des composés définie par les coefficients d'absorption au sang (Modèle pulmonaire de la CIPR (ICRP 66, 1994)). Les composés sont classés en type F (très transférable), type M (moyennement transférable) et type S (très peu transférable) (b).

Des doses létales entrainant le décès de 50% (DL50) ont été estimées chez l'homme par inhalation d'oxyde de plutonium à partir de données animales (chien, babouin) (b) :

DL 50	Intervalle de temps (Jours)
21 MBg (9,0 mg)	30
21 MBg (9,0 mg)	365
0,85 MBg (0,4 mg)	1000

Pour le public, les coefficients de dose issus de la Directive Européenne 96/29/EURATOM, sont établis en considérant un temps d'intégration de 50 ans pour l'adulte et jusqu'à l'âge de 70 ans pour l'enfant et des débits respiratoires moyens respectifs de 0,9 m3.h-1 et 0,2 m3.h-1 (b). Les coefficients de dose sont sensiblement plus élevés chez l'enfant.

Coefficients de dose pour l'inhalation de particules de plutonium et l'ingestion de plutonium chez l'adulte (b).

Adulte	Inhalation		Ingestion
Isotope	Type d'aérosol (AMAD = 1 μm)	Dose efficace ($Sv.Bq^{-1}$)	Dose efficace ($Sv.Bq^{-1}$)
Pu 238	F M S	$1,1.10^{-4}$ $4,6.10^{-5}$ $1,6.10^{-5}$	$2,3.10^{-7}$
Pu 239	F M S	$1,2.10^{-4}$ $5,0.10^{-5}$ $1,6.10^{-5}$	$2,5.10^{-7}$

AMAD : diamètre aérodynamique moyen en activité.

Des teneurs maximales en plutonium autorisées dans les denrées alimentaires ont été instaurées pour leur commercialisation dans l'Union Européenne depuis 1987 dans l'éventualité d'un accident futur (Règlements Euratom 3954/87 et 2218/89). Les valeurs suivantes s'appliquent à tous les isotopes du plutonium et des éléments transplutoniens à émissions alpha.

Teneurs maximales en plutonium autorisées dans les denrées alimentaires commercialisées dans l'Union Européenne :

Denrées alimentaires prêtes à la consommation			
Aliments pour le nourrisson	Produits laitiers	Autres denrées alimentaires	Liquides destinés à la consommation
1 $Bq.kg^{-1}$	20 $Bq.kg^{-1}$	80 $Bq.kg^{-1}$	20 $Bq.kg^{-1}$

** La Commission du Codex Alimentarius propose une révision des limites indicatives de 1 Bq.kg-1 pour les aliments pour nourrissons et de 10 Bq.kg-1 pour les autres aliments (Rapport ALINORM 06/29/12 de mai 2006).*

Le traitement des travailleurs exposés au plutonium dépend de la forme physicochimique contaminante. Après exposition, pour piéger la fraction passée dans le sang, le traitement se fait par injection d'un agent chélatant, l'acide diéthylène-triaminepentaacétique (DTPA) qui complexe fortement le Pu limitant ainsi le dépôt au niveau du squelette et du foie. Le plutonium s'élimine alors par voie urinaire.

Bibliographie

(a) Fiche radionucléide IRSN. Plutonium et environnement. 26/02/2002.

(b) Fiche radionucléide IRSN. Plutonium. Aspects sanitaires. Rapport SDI/2007-031.

(c) Fiche radiotoxicologique CEA/CARMIN. Plutonium. 12/2005.

Polychlorobiphényles (PCB) et polychloroterphényles (PCT)

Les PCB et leurs impuretés PCT sont des mélanges complexes de divers congénères isomères obtenus par chloration du biphényl et du terphényl ; leur teneur en chlore varie de 20 à 60 %. Ils sont commercialisés sous différentes appellations : Pyralène, Aroclor, Clophen, Phénoclor… Depuis 1930, ils sont largement utilisés dans les peintures, vernis, matières plastiques, résines synthétiques, lubrifiants, encres, papiers autocopiants, huiles de coupes, protections diverses, isolants électriques, liquides pour machines hydrauliques, etc. Leur ininflammabilité les fait rechercher pour la fabrication des condensateurs, des transformateurs de puissance, des redresseurs et comme fluide caloporteur. Les PCB qui se dissolvent facilement dans les huiles et les graisses et peu dans l'eau (quelques dizaines de μg/L) sont extrêmement résistants à la dégradation biologique, à l'oxydation, à l'action des bases et des acides, ainsi qu'à celle des agents chimiques.

Les différents PCB se caractérisent par leur nombre d'atomes de chlore ; les plus dangereux et non biodégradables sont ceux contenant plus de trois atomes de chlore. Ils sont retrouvés dans les rivières, les lacs, les mers, les sédiments et se rencontrent en particulier dans les poissons prédateurs (cf. § A-10.24.1). La toxicité des PCB et PCT pour les poissons est en général peu élevée, cependant certains invertébrés aquatiques sont plus sensibles. Leur présence dans l'environnement est liée aux rejets industriels, aux fuites dans les circuits ouverts, à la volatilisation par incinération. Les eaux non polluées en contiennent quelques nanogrammes par litre. Lorsque les eaux sont fortement contaminées, la teneur en PCB peut largement dépasser leur solubilité car ils s'adsorbent sur les particules en suspension. En France, dans les eaux superficielles, les PCB sont presque toujours présents à des teneurs de plusieurs centaines de nanogrammes par litre ; dans l'eau de mer (Méditerranée), les teneurs sont de l'ordre de 500 ng/L et sont très supérieures aux pesticides coextraits ; les sédiments marins (Méditerranée) ont une teneur moyenne de 0,23 mg/kg.

En raison de leur faible dégradabilité et de leur fort pouvoir d'accumulation dans l'environnement, les PCB ont des facteurs de concentration significatifs tout au long des chaînes alimentaires, pouvant varier de 1 000 à 200 000 ; la fixation dans les tissus graisseux est constante. La quantité de PCB apportée par l'alimentation varie considérablement suivant le type d'aliments, les poissons et le beurre étant parmi les plus riches. Les matériaux de conditionnement des aliments peuvent aussi introduire une pollution significative. L'apport journalier moyen en PCB d'origine alimentaire peut varier entre 5 μg et 100 μg. Des contrôles effectués dans plusieurs pays ont montré que la teneur en PCB dans les tissus humains est de l'ordre de 1 mg/kg. Les toxicités des PCB et PCT semblent très voisines. Les variations des résultats des études toxicologiques sont probablement liées à la présence d'impuretés toxiques dans les produits commerciaux. Si la toxicité de ces produits peut être considérée comme faible, ils sont cependant de puissants inducteurs enzymatiques. En cas d'absorption prolongée, les effets ont un caractère cumulatif. Dans la littérature, on relève deux accidents majeurs d'intoxications aiguës, survenus l'un au Japon, l'autre à

Taïwan, après consommation d'huile de riz contaminée par des PCB. Il s'est avéré que l'huile de riz avait été contaminée par des polychlorodibenzofurannes (PCDF), des polychloro-*p*-dibenzodioxines (PCDD) et des polychloroquaterphényles ; ces impuretés pourraient en fait être responsables de la toxicité des PCB. Les manifestations toxiques se caractérisent surtout par une asthénie, des troubles cutanés (chloracné), des hépatomégalies, une atteinte oculaire et pulmonaire et des troubles circulatoires et neurologiques. Les éventuels effets cancérogènes sont très controversés. Les études épidémiologiques sur des travailleurs exposés aux PCB ne font pas apparaître de surmortalité par cancer. Seules certaines préparations commerciales (Aroclor 1221 à 21 % de chlore) ont un effet mutagène après activation métabolique. La DL_{50} chez le rat varie de 1 à 2 g/kg et chez le lapin de 8 à 10 g/kg. Il a été calculé qu'il faudrait une absorption journalière de 0,02 mg pendant 70 ans pour que se manifeste une toxicité. À partir de cette observation, certains auteurs appliquant un facteur de sécurité de 10, estiment que la concentration limite ne devrait pas dépasser 0,001 mg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française concernant les eaux destinées à la consommation humaine classent les PCB et PCT parmi les pesticides et produits apparentés. Elles indiquent comme concentration maximale admissible par substance individualisée 0,1 μg/L et pour le total des substances mesurées 0,5 μg/L.

Les PCB ont une grande stabilité thermique qui est fonction du nombre d'atomes de chlore. Cependant, lors d'incendies de transformateurs contenant du pyralène (mélange de PCB et de trichlorobenzène), il se forme du TCDD, toxique dû à la présence de trichlorobenzène. Des études effectuées en France, en Allemagne, en Hollande, en Californie, à la suite d'accidents de transformateurs ont montré que les phénomènes toxiques se caracté-risent par une irritation des voies aériennes, de la peau, une asthénie, des céphalées. Cependant, il n'a pas été rapporté d'effets importants sur les paramètres biologiques, ni une augmentation du nombre de cancers.

La réglementation française et européenne (arrêté du 8 juillet 1975, directive 76/769/CEE du 27 juillet 1976) a restreint l'emploi des PCB en limitant leur usage à des systèmes clos non dispersifs, en réglementant leur récupération et leur destruction. De plus, la mise en évidence de l'émission de PCDD et PCDF au cours d'incendies a entraîné l'interdiction de la mise sur le marché et l'emploi de nouveaux équipements contenant des PCB (directive 85/467/CEE du 1er octobre 1985, décret n° 87-59 du 2 février 1987).

Voir aussi Dioxine.

Potassium

Bien que dans les roches ignées la teneur en potassium soit presque aussi importante que celle du sodium, sa présence à peu près constante dans les eaux naturelles ne dépasse pas habituellement 10 à 15 mg/L. Le seuil de perception gustative du chlorure de potassium se situe à environ 20 fois cette valeur. Certains rejets industriels, en particulier de mines de potasse et d'usines d'engrais, peuvent entraîner dans l'eau des quantités de potas-

sium relativement importantes. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme teneur du potassium dans l'eau destinée à la consommation humaine un niveau guide de 10 mg/L et une concentration maximale admissible de 12 mg/L. L'ancienne réglementation française retenait cette même teneur limite de 12 mg/L. Des concentrations sensiblement plus élevées, jusqu'à 1 500 mg/L, peuvent être acceptées, le potassium à faibles doses ne présente pas de risque significatif. Par ailleurs, cet élément étant sous le contrôle de l'homéostasie, même des variations importantes de la teneur de l'eau n'auraient que des effets négligeables sur les concentrations de l'organisme.

Les besoins de l'organisme sont de 3 à 4 g/j, facilement fournis par l'apport alimentaire, qui est important (les légumes verts et les fruits en contiennent 3 à 4 g/kg). Cet élément qui joue un rôle dans l'osmolarité des cellules et dans la transmission de l'influx nerveux s'élimine par les urines, la sueur et les selles.

Une partie de la radioactivité de l'eau peut être due au potassium 40 qui représente 0,0118 % du potassium naturel ; cette radioactivité est égale à 31 Bq/g ($0{,}84 \cdot 10^{-9}$ Ci/g) de potassium naturel. Si l'on considère une consommation de 2 L/j avec 12 mg/L de potassium, la radioactivité ingérée est de 0,7 Bq/j (19 pCi/j), ce qui ne constitue qu'une fraction négligeable de l'apport alimentaire qui varie entre 89 et 110 Bq (2 000 et 3 000 pCi).

Dans l'eau de mer, 95 % de la radioactivité est due au potassium 40 (12 Bq/L ou 324 pCi/L), le reste étant constitué par du rubidium 87 (0,11 Bq/L ou 2,9 pCi/L) et de l'uranium 238 (0,08 Bq/L ou 2,2 pCi/L).

Potentiel d'oxydo-réduction (potentiel redox)

Les processus ou phénomènes d'oxydation et de réduction sont très importants dans les milieux naturels aquatiques tant au niveau de la chimie de l'eau (dissolution ou précipitation des métaux, oxydation par l'oxygène, par photolyse ou par biodégradation des composés organiques dont les micropolluants, etc.) qu'à celui de la microbiologie, la biologie et la vie aquatique. Ils sont également importants en traitement physico-chimique des eaux propres (déferrisation, oxydation par l'oxygène ou par un oxydant chimique) et en épuration des eaux usées (milieu aérobie/anaérobie, septicité, etc.). De nombreux outils analytiques sont évidemment utilisés pour suivre ces processus.

La mesure du potentiel d'oxydo-réduction (ou potentiel redox) (cf. § A-5.4), souvent couplée à celles du *p*H (cf. § A-5.3) et de l'oxygène dissous (cf. § A-4.3), peut être utile pour évaluer l'état d'une ressource en eau naturelle ou pour conduire certains procédés de traitement.

Théoriquement, les potentiels standards d'oxydo-réduction sont toujours rapportés à la référence du potentiel standard nul du couple $H^+/H_{2(g)}$. Par suite, le potentiel d'oxydo-réduction d'un milieu est généralement symbolisé par E_H et relié au potentiel standard E^0_H par la realtion de NERNST (cf. § A-5.4). Toutefois, comme la mesure du potentiel d'oxydo-réduction est réalisée (en Volts) grâce à une cellule électrochimique constituée d'une électrode de mesure (platine) et d'une électrode de référence dite « au calomel », la valeur du potentiel mesuré est : E_{cal} (en Volts) = E_H (en Volts) – 0,244.

Les valeurs de E_H, peuvent, par exemple, aider à définir la « fraîcheur » d'une eau usée domestique. On considère qu'une eau usée domestique est « fraîche » quand son potentiel d'oxydo-réduction est de l'ordre de 100 mV, alors qu'une valeur inférieure à 40 mV caractérise un milieu septique et un potentiel supérieur à 300 mV un milieu oxydant anormal pour ce type d'eau.

Pour les eaux naturelles, il est possible de se repérer dans un diagramme de Pourbaix (dans le cas de métaux présentant des espèces réduites et oxydées, libres ou hydroxylées) par la mesure de E_H (et du *p*H) pour déterminer l'espèce majoritairement présente. Par exemple, le fer est dissous dans l'eau (pure) sous forme réduite à *p*H 6,5 et à 200 mV, alors qu'il est sous une forme solide de trihydroxyde ferrique à 400 mV au même *p*H.

Pouvoir colmatant

Le pouvoir colmatant d'une eau est associé à la présence dans les eaux naturelles d'un large spectre d'espèces susceptibles de s'accumuler à la surface des membranes. C'est le cas des macromolécules organiques (substances humiques, polysaccharides, protéines…), de diverses substances organiques ou inorganiques dissoutes, de substances colloïdales, de particules en suspension ou encore de microorganismes.

L'intérêt de ce paramètre s'est largement accru au cours des dernières années, avec l'essor des technologies de filtration membranaire (micro, ultra ou nano-filtration, osmose inverse…) pour la production d'eaux de consommation à partir d'eaux superficielles. Le colmatage constitue en effet un des principaux freins au développement de ces technologies, en induisant des diminutions des flux de perméation et, dans certains cas, en réduisant fortement les durées de vie des membranes.

Si certains composés, possédant une taille supérieure au diamètre des pores sont arrêtés par une simple action physique, de nombreux autres mécanismes sont évoqués pour expliquer le blocage des pores de la membrane. Il peut s'agir de modifications chimiques ou physico-chimiques à l'interface solution/membrane, telles que la précipitation de composés minéraux, l'adhésion à la membrane en raison du caractère hydrophobe de certains constituants, la précipitation sous forme d'un gel de macromolécules peu solubles… La présence de microorganismes et de constituants des cellules (structures macromoléculaires de type peptidoglycane) évoque également la possibilité de croissance d'un biofilm à la surface de la membrane.

L'intérêt économique des procédés membranaires a conduit au développement de nombreux outils pour évaluer le pouvoir colmatant des eaux. Les méthodes les plus traditionnelles sont décrites au paragraphe A.3.8.

Radioactivité

La qualité radiologique de l'eau a été traitée au paragraphe 8.2 de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles. En bref, l'eau de source et les eaux minérales se chargent en radioactivité naturelle par dissolution des radionucléides. Ce sont les isotopes du radon, le potassium 40, le rubidium 87, le samarium 147, le lutécium 176 et le rhénium 187, les éléments des familles naturelles de l'uranium et du thorium. La radioactivité artificielle des eaux naturelles a plusieurs sources : les rejets d'installations nucléaires et les accidents, les essais d'armes nucléaires. La problématique et les limites des rejets d'effluents radioactifs des installations nucléaires et des unités de médecine nucléaire ont été exposées au chapitre 4 de la partie D « Eaux résiduaires ».

L'utilisation des rayonnements ionisants en médecine, principale source de radioexposition due à l'homme, a une importance croissante : radiologie, radiothérapie, médecine nucléaire. Dans les pays développés, le niveau moyen d'exposition dû aux utilisations médicales est équivalent à environ 50 % de l'exposition moyenne au rayonnement naturel dans le monde. Des lésions radiologiques sévères sont dues à une mauvaise pratique de certaines techniques interventionnelles et de la radiothérapie (c).

Lorsque les rayonnements ionisants, ondes électromagnétiques (rayon gamma émis par un radionucléide ou rayon X émis par un appareil) ou particules chargées (alpha, bêta), traversent la matière, le dépôt d'énergie se traduit par l'ionisation des atomes et des molécules qui la constituent. Dans le cas de la radiolyse de l'eau libre ou confinée par exemple, après l'ionisation qui conduit à la génération du radical cation H_2O^+ et d'un électron qui est « hydraté » au bout d'une picoseconde, il y a formation d'espèces radicalaires, l'atome $H^\bullet$ et le radical $HO^\bullet$, et d'espèces moléculaires, le dihydrogène H_2 (a) et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (b).

Dans la matière vivante, les effets biologiques des rayonnements ionisants sont soit directs sur les cellules soit indirects par l'intermédiaire des radicaux issus de la radiolyse de l'eau, en particulier les radicaux oxydants $HO^\bullet$. Si le nombre de cellules détruites est très important, les dommages peuvent conduire à la mort chez les individus exposés à des rayonnements au-delà d'un certain seuil. Les dommages survenant dans les cellules sans les détruire mais en les modifiant sont généralement réparés mais si la réparation n'est pas fidèle, la modification transmise à d'autres cellules peut éventuellement aboutir à un cancer. Si les cellules modifiées transmettent des informations génétiques, des troubles héréditaires peuvent en résulter. Un cancer radio-induit pouvant se manifester plusieurs dizaines d'années après l'exposition ne diffère pas des cancers attribuables à d'autres facteurs. L'étude des 86 500 survivants des bombardements atomiques d'Hiroshima et de Nagasaki au Japon a montré un excédent de quelques centaines de décès par cancer. L'accident de la centrale nucléaire de Tchernobyl a causé la mort de 30 travailleurs et provoqué des radiolésions chez des centaines d'autres. Environ 1 800 cas de cancer de la thyroïde ont été recensés chez les enfants exposés (c).

Les termes (**activité**, **dose absorbée**, **équivalent de dose**) et les unités radiologiques respectives (Becquerel, Gray, Sievert) utilisés, donnés dans

l'annexe 9 « Mémento sur la radioactivité », sont les grandeurs de la radioprotection définies par la Commission Internationale de Protection Radiologique (CIPR) et la Commission Internationale des Unités et Mesures des Rayonnements (CIU). L'unité de dose absorbée, le Gray (Gy), correspond au transfert à la matière d'une énergie de 1 joule par kilogramme. En multipliant la dose absorbée D_R par un facteur de pondération approprié W_R, qui dépend du rayonnement R, on obtient la **dose équivalente** à l'organe ou au tissu H_T pour ce rayonnement. Les valeurs du facteur W_R correspondant aux différents types de rayonnement sont données dans le tableau ci-dessous [CIPR 60, 1990] (d, e) :

Type de rayonnement	W_R
Rayons X et γ	1
Particules β / électrons	1
Protons, énergie > 2 MeV	5
Particules α, noyaux lourds	20
Neutrons	
< 10 keV	5
10 keV à 100 keV	10
100 keV à 2 MeV	20
2 MeV à 20 MeV	10
> 20 MeV	5

$$Ht = \sum_R . W_R . D_R$$

Pour estimer la probabilité d'apparition d'un effet stochastique, la CIPR a défini le concept de **dose efficace** E exprimée en sievert (Sv) et qui n'est applicable que dans le domaine de la radioprotection. C'est la somme des doses équivalentes reçues par les différents organes et tissus d'un individu, pondérées par un facteur propre à chacun d'entre eux (facteur de pondération tissulaire $\mathbf{W_T}$) en fonction de sa radiosensibilité. Elle permet d'additionner des doses provenant de sources différentes, d'irradiation externe ou interne.

$$E = \sum_T H_T . W_T$$

Les facteurs **WT** établis à partir d'expérimentations animales et des données d'Hiroshima-Nagasaki, tiennent compte des cancers apparus et des effets héréditaires. Les valeurs du facteur de pondération W_T *sont données dans le tableau ci-dessous [CIPR 60, 1990] (d, e) :*

Organe ou tissu	W_T
Gonades	0,20
Moelle osseuse, côlon, poumons, estomac	0,12
Vessie, sein, foie, œsophage, thyroïde	0,05
Autres tissus (reste de l'organisme)	0,05
Peau, surface des os	0,01

Un radionucléide incorporé dans l'organisme pouvant être éliminé lentement, il continue d'émettre un rayonnement tant qu'il est présent dans le corps humain. On calcule la **dose efficace engagée E(t)** pendant 50 ans pour les adultes et jusqu'à l'âge de 70 ans pour les enfants (période d'engagement).

Pour évaluer les effets de l'exposition d'un groupe de population défini, on utilise la somme de toutes les doses reçues par les membres du groupe, appelée "dose collective" et exprimée en homme-sievert (c).

La dose effective annuelle mondiale par habitant, provenant de sources naturelles est de 2,4 mSv. Elle est obtenue en additionnant les diverses composantes (Tableau ci-dessous).

Sources	Doses effectives annuelles mondiales par habitant (mSv) en 2000
Sources naturelles	
Exposition externe	
Rayons cosmiques	0,4
Rayons gamma terrestres	0,5
Expositions internes	
Inhalation	1,2
Ingestion	0,3
Sources artificielles	
Examens médicaux, diagnostics	0,4
Essais nucléaires dans l'atmosphère	0,005
Accident de Tchernobyl	0,002
Électronucléaire	0,002

Les facteurs de dose, utilisés pour calculer la dose après une contamination interne, permettent de convertir l'activité (en Becquerel) d'un radionucléide inhalé ou ingéré en une dose efficace (en Sievert). Ils sont exprimés en $Sv.Bq^{-1}$. Les facteurs de dose (ou DPUI : dose par unité d'incorporation) tiennent compte du métabolisme des radionucléides dans l'organisme, de la nature et de l'énergie des rayonnements, de la radiosensibilité des tissus… (f).

Les normes européennes de radioactivité applicables aux eaux de consommation (et celles qui seront vraisemblablement fixées pour les eaux minérales naturelles), s'inspirent des recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé. Comme à l'échelle mondiale, l'exposition moyenne de l'homme aux rayonnements d'origine naturelle est de l'ordre de 2,4 mSv/an, l'OMS considère que la **dose effective engagée** attribuable à la consommation d'eau pendant un an, doit être inférieure à 5 % de la dose d'origine naturelle (2,4 mSv/an), soit 0,1 mSv/an. Cette **dose effective engagée** est la dose effective totale reçue tout au long de la vie par suite d'ingestion de radionucléides (la dose effective totale est la somme des doses doublement pondérées pour tenir compte des organes touchés et du type de rayonnement, α ou β). Pour le calcul de la dose effective engagée, on considère une consommation journalière de l'adulte de 2 litres d'eau pendant toute l'année (et toute sa vie).

Pour l'estimation des radionucléides persistant dans le corps humain après leur ingestion avec l'eau de boisson, on prend en compte le métabolisme.

En première approche, on considère que la dose effective engagée ne dépasse pas 0,1 mSv/an si les activités globales alpha et bêta, restent respectivement inférieures à 0,1 Bq/l et 1 Bq/l. Si l'une ou l'autre des activités globales alpha et bêta, dépasse respectivement 0,1 Bq/l et 1 Bq/l, il faut procéder à l'identification des radionucléides en présence et faire le calcul précis de la dose effective engagée (si la dose effective engagée est supérieure à 0,1 mSv/an, l'eau est considérée impropre à la consommation) (g).

C'est la directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine qui fixe à 0,1 mSv/an la "valeur paramétrique" de la "dose totale indicative" (g, h).

Paramètres dans les eaux destinées à la consommation humaine (h)	Valeur Paramétrique
Tritium	100 Bq/l
Dose totale indicative	0,10 mSv/an

Bibliographie

(a) P. Rotureau, J.P. Renault, B. Lebeau, J. Patarin et J.-C. Mialocq (2005). ChemPhysChem, 6, 1316-1323.

(b) S. Le Cäer, J.P. Renault et J.-C. Mialocq (2007). Chem. Phys. Lett. 450, 91–95.

(c) Rapport du Comité scientifique des Nations Unies pour l'étude des effets des rayon-

nements ionisants. Assemblée générale. Documents officiels. Cinquante-cinquième session, Supplément n° 46 (A/55/46), Nations Unies - New York, 2000.

(d) CEA/Direction des Sciences du Vivant, CARMIN. Différentes grandeurs : les doses. Mise à jour du 01/04/2005.

(e) Arrêté du 1er septembre 2003 définissant les modalités de calcul des doses efficaces et des doses équivalentes résultant de l'exposition des personnes aux rayonnements ionisants.

NOR: SANC0323527A. JORF n°262 du 13 novembre 2003 page 58003 texte n° 2.

(f) CEA/Direction des Sciences du Vivant, CARMIN. Facteurs de dose (DPUI). Mise à jour du 01/04/2005.

(g) Eau Minérale et Radioactivité, Note technique n° 15, Juillet 2000. Ministère de l'Economie, des Finances et de l'Industrie. Division Nationale des Eaux Minérales et Thermales.

(h) Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Journal officiel des Communautés européennes 5.12.98.

Radium

Le radium a été découvert en 1898 par Pierre et Marie Curie dans la pechblende. Métal blanc et brillant appartenant à la famille des alcalino-terreux, il est présent dans les sols uranifères à raison de 1 gramme de radium pour 3 tonnes d'uranium dans le minerai. Majoritaire parmi les 25 isotopes radioactifs du radium, le Ra 226 de période 1622 ans, résulte de la chaîne de désintégration de l'U 238 et se désintègre par émission α en Radon 222 (T=3,8 jours). On le rencontre aussi dans les engrais phosphatés (10-500 Bq/kg) et le charbon (3-30 Bq/kg) (a). Les eaux gazeuses minérales contiennent du radium 226 (Paragraphe 8.2.1 de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles »).

La période biologique du radium dans l'organisme entier est de 900 jours et dans les os de 5,5 ans.

Les coefficients de dose efficace par ingestion, établis pour un temps d'intégration de 50 ans pour l'adulte et jusqu'à l'âge de 70 ans pour l'enfant, sont 2,8.10-7 Sv/Bq pour l'adulte et 9,6.10-7 Sv/Bq pour l'enfant (1-2 ans) (a).

La limite annuelle d'incorporation par ingestion du radium 226, considéré comme le nucléide le plus radiotoxique (Groupe de radiotoxicité 1, très forte), est de 7 x 103 Bq.an-1.

Pour les travailleurs, les limites annuelles d'incorporation par ingestion et par inhalation (LAI) des isotopes du radium sont données dans le tableau de la page suivante (b).

Les techniques de mesurage de l'activité du radium 226 dans tous types d'eau sont traitées au paragraphe 8.4.4 de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles ».

Radionucléide	Ingestion (Bq) (b)	Inhalation (Bq) (b)
Ra 223	2 X 105	3 X 104
Ra 224	3 X 105	6 X 104
Ra 225	3 X 105	2 X 104
Ra 226	7 X 104	2 X 104
Ra 227	6 X 108	5 X 108
Ra 228	9 X 104	4 X 104

Bibliographie

(a) Fiche Radionucléide IPSN. Radium 226 et ses descendants à l'équilibre. Aspects sanitaires. 1ère édition : 01/08/2001.

(b) Annexe 4 du décret n° 86-1103 du 02/10/86 relatif à la protection des travailleurs contre les dangers des rayonnements ionisants.

Radon

Le radon est un gaz rare radioactif, inerte, incolore, le plus lourd des gaz connus, soluble dans l'eau. Issu de la désintégration de l'uranium et du radium présents dans la croûte terrestre, il est présent partout à la surface de la planète et provient surtout des sous-sols granitiques et volcaniques. Il existe trois isotopes naturels du radon, le radon 220 ou thoron (de période 55,6 s) découvert par Ernest Rutherford et Frédérick Soddy et issu du thorium X (Radium 224) descendant du thorium 232, le radon 222 (de période 3,82 j) découvert par Dorn et qui provient de la désintégration du radium 226 dans la chaîne de filiation de l'uranium 238, et le radon 219 (de période 3,96 s) ou actinon découvert par Giesel et descendant de l'uranium 235. Le radon 222, du fait de son abondance et de sa période plus longue, est celui qui apporte la plus grande part à l'exposition naturelle de l'homme. L'émission du radon dans l'atmosphère dépend beaucoup de la nature géologique du sol et des conditions météorologiques. Sa concentration dans l'air extérieur est faible. Pénétrant dans les habitations par diffusion ou convexion, il se trouve, par effet de confinement, à des concentrations plus élevées dans les habitations, surtout si elles sont isolées, ou dans les sous-sols. Les descendants solides à vie courte du radon, émetteurs alpha, sont le polonium 218 (période 3,05 min), le plomb 214 (période 26,8 min), le bismuth 214 (période 19,9 min), le polonium 214 (période 1,65.10-4 s). Ce sont des éléments métalliques qui dans l'air se condensent sur les poussières pour former des aérosols radioactifs naturels. Ils sont alors inhalés avec l'air respiré et se déposent dans les poumons (a-e).

Suite à des études épidémiologiques sur les causes de décès des travailleurs dans les mines d'uranium ainsi que des expérimentations in vivo, le radon a été classé en 1987 par le CIRC (Centre international de Recherche sur le Cancer), comme cancérogène certain pour l'homme (a). Toutes ces études, notamment celles de l'Institut de recherche et de sûreté

nucléaire (IRSN) sur les mineurs français, ont montré que l'effet cancérogène du radon pour le poumon augmente proportionnellement avec l'exposition cumulée. La prévention repose essentiellement sur la ventilation des galeries des mines souterraines (d).

Pour suivre l'exposition professionnelle dans les mines, une unité spécifique a été mise en place et ensuite adaptée aux expositions environnementales (habitations) : 1 WLM (Working Level Month). C'est une unité de mesure de l'exposition cumulée au radon et à ses descendants pendant 170 h dans une atmosphère où leur concentration correspond à la libération d'une énergie de 1,3.105 MeV par litre d'air (1 WL), soit l'énergie délivrée sous forme de rayonnements alpha des descendants en équilibre avec environ 100 picocuries de radon 222 par litre d'air. 1 WLM correspond à peu près à une exposition domestique pendant 1 an dans une atmosphère intérieure où l'activité volumique du radon est de 230 Bq.m-3 (a).

Le décret n° 86-1103 du 02/10/86 relatif à la protection des travailleurs contre les dangers des rayonnements ionisants fixe les limites annuelles d'incorporation par ingestion et par inhalation (LAI) et les limites dérivées de concentration dans l'air du radon pour l'exposition professionnelle (LDCA) (f).

Les premières campagnes de mesure du radon dans les bâtiments datant du début des années 80 avaient pour objectifs la connaissance de la distribution des activités volumiques du radon dans l'habitat et l'estimation de l'exposition moyenne des populations. Depuis 1982, des campagnes de mesure de l'exposition domestique au radon ont été menées par l'IRSN et la Direction Générale de la Santé (DGS) dans des départements d'abord choisis en fonction de caractéristiques géologiques favorables à l'émission de radon puis étendues aux départements non mesurés pour couvrir l'ensemble du territoire et constituer une base de données, qui était constituée de 12641 mesures au 01/01/2000. La moyenne arithmétique des mesures en France est égale à 90 Bq.m-3. Les moyennes par département vont de 22 Bq.m-3 (Paris) à 264 Bq.m-3 (Lozère) (b, e).

Aux niveaux d'exposition rencontrés, on estime que le radon est la deuxième source de cancer du poumon en France, très loin après le tabac, avec environ 13 % des 25 000 décès (soit environ 3 350 décès) par cancer du poumon observés annuellement. Le radon serait impliqué chaque année dans environ 20 000 décès par cancer du poumon en Europe (d). Dans une circulaire du 27 janvier 1999, les pouvoirs publics ont entériné le seuil d'alerte de 1 000 Bq/m³, mais retiennent comme objectif de précaution le seuil de 400 Bq/m³, valeur incitative recommandée pour les bâtiments existants (g). Depuis le 11 août 2004, dans certains départements, les propriétaires de lieux ouverts au public ont eu l'obligation par arrêté ministériel de faire procéder à des mesures d'activité volumique de radon (d).

Pour diminuer la présence de radon dans les bâtiments, les principes des techniques consistent à diluer la concentration en radon dans le volume habité et à empêcher le radon venant du sol d'y pénétrer. Il est indispensable d'assurer la meilleure étanchéité à l'air possible entre le bâtiment et son sous-sol. D'autres solutions peuvent être mises en oeuvre en parallèle, d'abord en augmentant le renouvellement d'air dans le bâtiment, une solution qui trouve ses limites dans les contraintes énergétiques et le confort

thermique. Enfin, une technique consiste à traiter le soubassement (vide sanitaire, cave, dallage sur terre-plein), par aération naturelle, par ventilation mécanique ou avec un Système de Dépressurisation des sols (SDS), qui consiste à générer un champ de pression dans le soubassement inférieur à celui régnant au niveau du sol du bâtiment (c).

La mesure de la concentration en radon dans l'eau est effectuée par spectrométrie à scintillation liquide PERALS (Paragraphe 8.4.5 de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles »).

Bibliographie

(a) Radon. CEA/Direction des Sciences du Vivant. CARMIN. Mise à jour du 12/04/2005.

(b) Le radon. IRSN. Collection thématique, 2006.

(c) Le radon dans les bâtiments. CSTB. Géosciences, numéro 5, mars 2007.

(d) Agents. Radon. AFSSET. Janvier 2006.

(e) Ministère du Logement, Direction Générale de l'Urbanisme, de l'Habitat et de la Construction. Direction Générale de la Santé.

(f) Décret n° 86-1103 du 02/10/86 relatif à la protection des travailleurs contre les dangers des rayonnements ionisants.

(g) Circulaire conjointe DGS/VS 5 (Ministère de l'emploi et de la solidarité) et DGUHC n° 99-46 (Ministère de l'équipement et du logement) du 27 janvier 1999 relative à l'organisation de la gestion du risque lié au radon.

Résidus pharmaceutiques

Comme les perturbateurs endocriniens, les résidus pharmaceutiques sont un nouveau sujet de préoccupation dans le domaine de l'eau. Ils sont considérés comme faisant partie des micropolluants émergents. Ces composés sont absorbés par l'Homme et les animaux dans le cadre de traitements médicamenteux, ne sont que partiellement utilisés par l'organisme et sont, par suite, excrétés sous des formes et à des pourcentages très variables. Leur première détection dans les eaux date d'une dizaine d'années (acide clofibrique) en Allemagne, mais leur présence a été confirmée depuis dans de nombreuses eaux usées, eaux de surface et eaux souterraines dans le monde entier, pour certains à des concentrations pouvant atteindre le µg/L. On connaît peu la toxicité de ces composés, la littérature développe presque exclusivement le cas des antibiotiques suspectés de développer une résistance chez les bactéries pathogènes. Toutefois, certains sont reconnus pour avoir des effets néfastes sur les organismes aquatiques et terrestres en raison de leur potentialité d'accumulation et leurs propriétés biologiques.

Parmi les résidus pharmaceutiques, on trouve plusieurs classes, en fonction de leurs effets thérapeutiques, les antibiotiques, les analgésiques, les anti-inflammatoires, les régulateurs lipidiques, les anti-épileptiques, les bêta bloquants, les antidépresseurs, les antiparasitaires, les agents de contraste, les anesthésiants (cf. § A-10.28).

Leur concentration dans l'environnement aquatique varie énormément d'un site à l'autre. En moyenne les concentrations rapportées dans les effluents de stations d'épuration sont comprises entre quelques ng/L et le µg/L. Dans les eaux de surface, les concentrations citées dans la littérature vont de 10 à 500 ng/L. Dans les rivières de l'Ile de France, par exemple, parmi

une vingtaine de substances recherchées, le paracétamol (analgésique anti-inflammatoire), la carbamazépine (anti-épileptique), et le bezafibrate (liporégulateurs) sont les composés les plus fréquemment détectés à des concentrations maximales de 600 ng/L pour le premier, 60 ng/L pour le second et 100 ng/L pour le troisième. Les autres composés recherchés sont moins souvent présent mais (quand ils sont présents) peuvent atteindre de fortes concentrations atteignant 200 ng/L (comme les antibiotiques sulfamerazine et erythromycine).

On possède peu de données sur le devenir de ces composés dans l'environnement naturel. Certains composés ont toutefois fait l'objet de travaux de laboratoire, comme le diclofénac et le paracétamol (analgésiques et anti-inflammatoires), la carbamazépine (anti-épileptique), l'acide clofibrique (régulateur lipidique), les fluoroquinolones (antibiotiques), l'aténotol (bêta-bloquant), l'iohexol et l'iopromide (agents de contraste iodés). Ces données portent généralement sur les capacités d'hydrolyse (généralement faible voire nulle) et de photolyse (importante en général et en particulier pour le diclofénac, même sous irradiation naturelle), ainsi que sur la formation de complexes stables (par exemple avec les fluoroquinolones). Certains de ces composés ont également fait l'objet d'étude sur leur réactivité avec le chlore (très faible pour la carbamazépine et le diclofénac, efficace avec le paracétamol mais conduisant à la formation de sous-produits potentiellement toxiques) ou avec l'ozone (importante pour la carbamazépine, le diclofénac et le paracétamol).

Résidus secs

La détermination du résidu sur l'eau non filtrée permet d'évaluer la teneur en matières dissoutes et en suspension non volatiles ; la mesure après filtration correspond aux matières dissoutes (cf. § A-5.1). Ces valeurs peuvent être recoupées à partir de la mesure de la conductivité. Les résultats analytiques sont influencés par la température et la durée de la dessiccation. Les valeurs obtenues permettent d'apprécier la minéralisation de l'eau : pour des valeurs inférieures à 600 mg/L, l'acceptabilité par le consommateur est bonne, au-dessus de 1 200 g/L, l'eau devient désagréable.

Pour des raisons de saveur, l'OMS recommande une valeur limite de 1 000 mg/L dans l'eau destinée à la consommation humaine. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française indiquaient comme valeur limite 1 500 mg/L après dessiccation à 180 °C.

Voir aussi Minéralisation globale, Matières en suspension.

Résistivité électrique

La mesure de résistivité (cf. § A-5.2) permet d'évaluer rapidement mais approximativement la minéralisation globale d'une eau potable. L'unité de

résistivité est l'ohm-mètre (Ω . m), les multiples et sous-multiples usuels sont le megohm-mètre (MΩm) et le microhm-mètre (μΩ . m). En hydrologie, l'unité généralement employée est l'ohm-centimètre (Ω . cm). La conductivité est l'inverse de la résistivité ; elle s'exprime en Siemens par mètre (S/m). En hydrologie, l'unité généralement employée est le micro-Siemens par centimètre (μS/cm). Ainsi, par exemple, 2 500 Ω . cm correspondent à 400 μS/cm.

Le tableau suivant donne quelques indications sur la relation existant entre la minéralisation et la résistivité.

résistivité > 10 000 Ω . cm : minéralisation très faible.

5 000 Ω . cm < résistivité < 10 000 Ω . cm : minéralisation faible.

3 000 Ω . cm < résistivité < 5 000 Ω . cm : minéralisation moyenne.

1 500 Ω . cm < résistivité < 3 000 Ω . cm : minéralisation moyenne accentuée.

1 000 Ω . cm < résistivité < 1 500 Ω . cm : minéralisation importante.

résistivité < 1 000 Ω . cm : minéralisation élevée.

Voir aussi Conductivité.

*r*H

Le *r*H, qui est le cologarithme de la pression d'équilibre d'hydrogène dans le milieu, caractérise l'aptitude de ce milieu à être réduit ou oxydé par un autre milieu ou un produit déterminé (cf. § A-5.5). Ce potentiel n'est pas connu d'une façon absolue mais seulement par rapport à une électrode choisie arbitrairement, l'électrode à hydrogène. Pratiquement, le pouvoir réducteur d'une eau sera d'autant plus grand que le *r*H du milieu étudié sera plus faible et inversement. Si le *r*H est compris entre 0 et 27, le milieu est considéré comme réducteur ; de 27 à 54, il est considéré comme oxydant. Cependant, la neutralité redox ne correspond pas à une égalité des concentrations en forme réduite et oxydée. Suivant les conventions qui varient, le *r*H neutre est de 27,3-27,2 ou 20,5 ; la notion de neutralité redox est donc assez mal définie. En réalité, le pouvoir oxydant et le pouvoir réducteur sont des pouvoirs relatifs. Dans les stations d'épuration, le *r*H peut aider à contrôler les arrivées intempestives d'agents de réduction et d'oxydation susceptibles de perturber le traitement des eaux usées.

Saveur

Il est possible de faire sur ce test les mêmes réserves que pour celui de l'odeur. Si l'appréciation de la saveur complète utilement l'épreuve d'olfaction, elle ne la remplace pas. Dire que l'eau potable doit être insipide n'implique aucune évaluation précise et n'a pas grande signification. D'une façon générale, il est bien difficile de porter un jugement sur la qualité d'une eau par la seule évaluation de la saveur. Dans la pratique, les réclamations aussi bien d'ailleurs que l'absence de réclamations des consommateurs ne

constituent pas un test absolu pour juger des qualités organoleptiques de l'eau.

Dans le cas de l'eau de distribution (cf. § A-2.3), il faut bien reconnaître que les traitements par le chlore sont à l'origine de la plupart des problèmes organoleptiques. Cependant, la diminution du taux de chlore ne doit pas conduire à poser des problèmes bactériologiques. La minéralisation de l'eau suivant qu'elle est faible ou importante introduit un goût plus ou moins accentué et on peut distinguer par conséquent certains crus d'eau. Une eau potable de bonne qualité doit avoir une saveur faible et agréable. Pour que l'eau soit considérée comme n'ayant pas de goût particulier, certains sels tels que le chlorure de calcium, l'hydrogénocarbonate de sodium, doivent être présents à une concentration voisine de celle de la salive.

En dehors de la minéralisation, une saveur désagréable peut révéler la présence de substances indésirables dont il importera de préciser l'origine. C'est le cas en particulier de certaines saveurs amères, douces et sucrées décelables à la dégustation et de goûts imputables à des concentrations très faibles de substances fortement sapides, telles que les chlorophénols dont la dégradation peut développer des goûts encore plus marqués (moisi). Certains produits du métabolisme des algues et des actinomycètes (mucidone, isobornéol, géosmine) sont aussi susceptibles de certains goûts terreux, de même que les algues bleu-vert donnent un goût de pourri et les algues vertes un goût d'herbe (voir odeur). Il a été démontré que les goûts et les odeurs sont souvent caractéristiques d'un stade particulier du développement des algues, lié à la fonction de reproduction. Des goûts de savon dus aux détergents ont été également signalés. Enfin, certaines matières plastiques comme le polyéthylène faible densité utilisées pour les canalisations sont susceptibles de contenir des substances développant des goûts. Il peut y avoir une action de synergie de différents produits entraînant une apparition brutale de goûts désagréables.

S'il y a absence des sels habituels et d'anhydride carbonique, la saveur de l'eau sera fade ; c'est le cas des eaux de citernes. Si elle renferme une quantité trop forte de chlorures, elle sera saumâtre. Si elle renferme une quantité trop forte de magnésie, elle sera amère. S'il y a excès d'alumine, elle sera terreuse. Si elle est chargée en fer, elle sera métallique. De toute façon, ce n'est pas l'habitude que l'on a du goût de certaines eaux qui doit faire considérer que cette eau est de bonne qualité. Bien que satisfaisant aux normes bactériologiques et chimiques, une eau présentant une saveur désagréable est peu engageante. Le public peut alors être conduit à utiliser des eaux de source ou de puits dont le goût est plus agréable mais dont les qualités hygiéniques, non contrôlées, sont discutables.

L'OMS recommande que l'eau ne soit pas considérée comme inacceptable par une majorité de consommateurs. Il en est de même pour les réglementations européenne et française actuelles (odeur acceptable). À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine indiquaient pour la saveur un taux de dilution égal à zéro comme niveau guide et un taux de dilution maximal admissible de 2 à 12 °C et de 3 à 25 °C. L'ancienne réglementation française précisait que l'eau ne devait pas présenter de saveur pour un taux de dilution de 2 à 12 °C et de 3 à 25 °C.

Sélénium

Le sélénium, largement répandu dans la nature, se rencontre à l'état de traces dans les pyrites, les minerais sulfurés du cuivre, du plomb, de l'or, de l'argent et du nickel. Le sol (pyrites sélénifères, schistes argileux), peut en contenir 1 à 6 mg/kg. Lorsque du charbon sélénifère est utilisé dans les centrales électriques, les cendres peuvent entraîner des émissions de ce toxique. Industriellement, il constitue un sous-produit du raffinage du cuivre ; il est utilisé dans la préparation de colorants, en verrerie, en métallurgie et pour le traitement des textiles ainsi que dans la fabrication des cellules photo-électriques et de semi-conducteurs. Il est employé dans l'industrie du caoutchouc (accélérateur de vulcanisation) et dans l'industrie chimique (catalyseur). En agriculture, il entre dans la fabrication de nombreux produits phytosanitaires (fongicides, insecticides, acaricides, etc.). Dans l'industrie pharmaceutique, il est utilisé sous forme colloïdale pour le traitement des mycoses, du pityriasis versicolor et en cosmétologie (shampooings antiparasitaires, antipelliculaires, etc.)

Le sélénium métalloïde bien qu'insoluble peut devenir soluble par transformation en sélénite et séléniate. Dans certains sols sélénifères, en particulier dans les zones semi-arides, on peut rencontrer des valeurs de plusieurs centaines de µg/L. Dans ces zones, les plantes peuvent accumuler le sélénium et devenir ainsi toxiques pour la vie sauvage.

En France, des teneurs en sélénium total allant de 0,10 à 0,20 mg/L ont été mesurées dans certaines rivières (cf. § A-7.45), mais la plupart des eaux en contiennent moins de 10 µg/L. En général, les eaux de puits peu profonds sont plus chargées en sélénium que celles provenant de puits profonds. La teneur de l'eau de mer est faible, de l'ordre de quelques microgrammes par litre. Dans les stations d'épuration des eaux usées, le sélénium a tendance à se fixer sur les boues et peut éventuellement être libéré par des processus microbiologiques.

L'alimentation (céréales, viande, œufs) semble conduire à une ingestion de 0,2 à 0,5 mg/j de sélénium ; les produits de la mer en contiennent de 0,3 à 0,55 mg/kg. Toutefois, si les sels de sélénium sont absorbés par voie digestive, le sélénium alimentaire ne le serait que faiblement. L'apport hydrique est très faible. Toutefois, suivant la pollution de l'environnement, l'eau et les denrées alimentaires sont susceptibles de se charger en cet élément qui peut alors entraîner des caries dentaires, une pâleur de la peau, et des troubles digestifs. L'intoxication grave se caractérise par des troubles pulmonaires, digestifs, nerveux et cutanés. Le sélénium s'élimine principalement par les urines (50 à 70 %). L'action toxique dépend du caractère organique ou minéral du composé, de la valence, de la dose absorbée, de la durée de l'exposition. Il a été observé certains signes d'intoxication avec l'absorption de 0,01 à 0,02 mg de sélénium par kilogramme de poids corporel et par jour. Les études épidémiologiques et expérimentales n'ont pas mis en évidence d'action carcinogène et tératogène, mais le sujet reste très controversé.

L'action du sélénium a été envisagée dans la goitrogenèse ; cet élément intervient dans l'activité de la 5′-désiodase de type I et de la glutathion peroxydase qui sont des sélénoprotéines. Sa carence se traduit par une réduction d'activité de la 5′-désiodase et donc de la désiodation périphéri-

que en T4 et T3. Il est admis que le sélénium est un oligo-élément indispensable à l'homme, mais la limite entre la dose utile et la dose toxique n'est pas vraiment connue actuellement ; la toxicité et la biodisponibilité sont liées à sa forme physico-chimique. Il agit comme antioxydant, protégeant l'organisme contre l'oxydation et notamment les lipoprotéines de la peroxydation. De ce fait, il peut avoir un rôle protecteur vis-à-vis de certains agents cancérogènes et une action détoxicante vis-à-vis de certains métaux lourds (cadmium) ; dans certaines circonstances, il serait un antagoniste de l'arsenic. La carence en sélénium est bien documentée en Chine où elle est responsable de deux maladies touchant l'enfant et la femme jeune : la maladie de Keshan (myocardiopathie) et la maladie de Kashin-Beck (ostéo-arthropathie). La Nouvelle-Zélande et la Finlande seraient dépourvues de cet élément. Récemment, une carence en sélénium a été décrite dans une population du nord-ouest du Zaïre, associée à une carence iodée. En l'absence de connaissances indiscutables sur l'intérêt biologique du sélénium et de sa toxicité aux faibles doses, la fixation d'une valeur limite dans l'eau est très controversée. La bibliographie ne fait état que d'un cas d'intoxication hydrique (chute des cheveux, fragilité des ongles, apathie) chez un sujet ayant consommé pendant trois mois l'eau d'un puits qui contenait 9 mg/L de sélénium.

En se basant sur le fait que l'alimentation journalière conduit à une ingestion d'environ 0,2 mg, chiffre qui n'est pas très éloigné des niveaux susceptibles d'entraîner certains symptômes d'intoxications (0,8 mg/j), L'OMS, les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française ont retenu comme valeur limite dans l'eau destinée à la consommation humaine le chiffre de 10 µg/L (exprimée en Se). S'il est admis que l'apport alimentaire est faible, la valeur limite pourrait être modifiée en conséquence.

Certaines études épidémiologiques ont en effet montré que pour des populations consommant une eau contenant 10 à 20 µg/L de sélénium, la teneur en sélénium dans les ongles n'est pas significativement plus élevée que pour les populations témoins.

Dans des régions sélénifères (États-Unis, Australie), des concentrations significatives dans les végétaux peuvent provoquer des intoxications chroniques du bétail, *alkali disease*, qui se caractérisent par une atteinte de la kératine (poils, sabots), des malformations congénitales et des modifications hépatiques. L'intoxication aiguë ou *blind stigger* se manifeste par des troubles du comportement, de l'équilibre, des convulsions, une paralysie.

Il ne semble pas que des doses inférieures à 1 mg/L entraînent des troubles de la vie aquatique ; toutefois les eaux renfermant plus de 0,5 mg/L ne seraient pas utilisables pour l'irrigation.

Silice

Les composés siliceux représentent environ 28 % de la lithosphère (quartz, sables, roches ignées, etc.). Combinée à de nombreux minéraux, la silice forme des silicates. La dégradation de ces produits est à l'origine de la silice naturelle dans l'eau où elle se présente soit à l'état soluble (ionique), soit à l'état colloïdal, soit en suspension. Sa faible solubilité est liée à la

température, au *p*H et à la composition des minéraux, la concentration saturante allant de 5 mg/L à 0 °C à 140 mg/L à 25 °C. En solution, cet élément peut exister, en fonction du *p*H, sous forme d'acide silicique ou d'ions silicates. Les eaux des régions volcaniques peuvent en contenir plusieurs dizaines de milligrammes par litre (cf. § A-7.46). Les silicates peuvent aussi provenir d'un traitement des eaux, associés ou non aux polyphosphates car ils sont utilisés comme coagulants et inhibiteurs de la corrosion. La protection contre la corrosion est liée à la formation de silice colloïdale qui donne un film protégeant les parois des canalisations. La réglementation française prévoit que l'introduction dans l'eau d'alimentation de faibles doses de silicates, associées ou non à des polyphosphates ou à un autre produit autorisé, peut être envisagée dans les conditions suivantes : les silicates employés ne devront contenir aucune substance susceptible après son introduction dans l'eau, de porter atteinte à la santé de ceux qui la consomment et le taux de traitement, exprimé en SiO_2 , sera inférieur à 10 mg/L. Si l'augmentation de la teneur en silicates dépasse cette valeur, des contrôles complémentaires seront à envisager.

Les directives du Conseil des communautés européennes relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine ne donnent pas d'indication concernant la concentration maximale admissible et le niveau guide. Une eau potable de bonne qualité ne contient pas plus de 20 mg/L de silice. En dehors de ses manifestations pathologiques au niveau du poumon liées à l'inhalation, l'action biologique du silicium a été peu étudiée. Cependant, il y a lieu de tenir compte de l'interaction fluor-silicium qui peut être responsable de manifestations d'hyperfluoroses. Expérimentalement, le silicium développe chez l'animal un « squelette de silex » très particulier. Il pourrait être associé au calcium dans les processus de minéralisation des tissus osseux et entraîner ainsi une action anticariogène.

Dans l'industrie, il existe un problème pour les installations de refroidissement et les eaux de chaudières à haute pression ; en effet, la silice forme des dépôts extrêmement durs sur les tubes des surchauffeurs et sur les turbines. Les teneurs maximales admises sont fonction de la pression :

– pour 1 380 000 Pa	250 mg/L en SiO_2 ;
– pour 3 100 000 Pa	125 mg/L en SiO_2 ;
– pour 9 650 000 Pa	5 mg/L en SiO_2.

Dans les générateurs de vapeur pour production d'électricité, la teneur en silice est habituellement limitée à 300 µg/L.

Il existe plusieurs types de traitements industriels susceptibles d'éliminer la silice (distillation, échange d'ions, osmose inverse, coprécipitation avec le magnésium, etc.).

Sodium

Dès l'Antiquité, le sel s'imposa comme valeur d'échanges ; ainsi, il servit de salaire (*salarium*) aux soldats romains, d'où son nom. Le sodium, sous forme de chlorure de sodium, a une grande importance alimentaire et industrielle. Il peut être soit d'origine marine – il est alors obtenu par l'éva-

poration progressive des marais salants, soit extrait à partir du sous-sol où il existe sous forme de sel gemme.

Le sodium est un élément constant de l'eau, toutefois, les concentrations peuvent être extrêmement variables allant de quelques dizaines de milligrammes à 500 mg/L et même au-delà (cf. § A-7.47). Indépendamment de la lixiviation des formations géologiques contenant du chlorure de sodium, le sel peut provenir de la décomposition de sels minéraux comme les silicates de sodium et d'aluminium, des retombées d'origine marine, de la venue d'eaux salées dans les nappes aquifères, de son emploi pour faire fondre la neige, des nombreux usages industriels, etc. Par ailleurs le traitement de l'eau peut ajouter du sodium en provenance du carbonate, de l'hydroxyde, du silicate et de l'hypochlorite de sodium. Sous l'influence du métabolisme de régulation autonome endocrinien et cardio-vasculaire, la concentration dans les liquides extra-cellulaires de l'organisme est étroitement équilibrée avec l'élimination urinaire. La teneur en sodium est assez variable suivant les aliments, de plus, les préparations culinaires conduisent à en ajouter, et l'habitude de la salière sur la table invite encore à en rajouter. Étant donné son caractère hygroscopique, le sel fin est souvent additionné d'une petite quantité de carbonate de magnésium (1 %). Un régime alimentaire normal apporte 3 à 5 g/j de sodium (8 à 12 g/j en chlorure de sodium). La quantité nécessaire est inférieure à 200 mg/j pour l'enfant et à 2 000 mg/j pour l'adulte. Toutefois certaines populations (jungle, désert), se contentent sans problèmes spécifiques de moins de 1 000 mg/j. Sauf cas particuliers, l'apport hydrique du sodium est très faible par rapport à celui d'origine alimentaire. L'Organisation mondiale de la santé a recommandé une réduction progressive de l'apport quotidien total en chlorure de sodium à 6 g/j. Ces dernières années, de nombreuses études ont été pratiquées pour déterminer s'il existait une possible corrélation entre le sodium et l'hypertension. L'expérimentation animale paraît avoir démontré que l'excès de sodium ne contribuait qu'à démasquer une tendance génétiquement déterminée, mais qu'il était sans effet sur les sujets génétiquement réfractaires. Par ailleurs, les études épidémiologiques humaines montrent que chez les populations primitives, faibles consommatrices de sodium comme indiqué ci-dessus, l'hypertension n'existait pas, alors que chez les populations occidentales, grandes consommatrices de chlorure de sodium (10 g/j), on notait une hypertension fréquente et aussi une élévation « physiologique » avec l'âge. Cette observation a été confirmée chez des populations identiques mais ayant un apport en sels différent : le groupe dont la consommation était faible a vu sa pression artérielle diminuer par rapport au groupe témoin. Cependant, dans l'état actuel des choses, il est difficile d'établir une relation étroite entre la consommation de chlorure de sodium et la fréquence de cette affection influencée par beaucoup d'autres facteurs (hormonaux, organiques, nerveux, etc.). L'absorption de quantités relativement importantes de sodium peut être dangereuse chez certains malades. C'est le cas des sujets qui souffrent d'accidents vasculaires cérébraux, de thrombose coronaire, d'hypertension, de cardiopathies artériosclérotiques et dégénératives, de glomérulo-néphrite chronique, de cirrhose du foie, et de certaines complications de la grossesse comme la toxémie et la prééclampsie ; pour Garrisson et Ader, ces malades ne devraient pas consommer une eau contenant plus de 20 mg/L de sodium. En fait, un

certain nombre d'individus sont conduits, un jour ou l'autre, à subir un régime désodé dont la sévérité varie avec l'affection :

– régime désodé large (1 500 mg/j) : angine de poitrine, infarctus ;

– régime désodé relatif (600 à 800 mg/j) : insuffisance cardiaque sans hypertension ;

– régime désodé strict (400 mg/j) : insuffisance cardiaque avec hypertension, tendance à l'œdème.

Il a même été proposé, aux États-Unis, de supprimer le sel de l'alimentation des enfants en bas âge ; en effet, la tendance actuelle est de remplacer le lait de femme par le lait de vache quatre fois plus riche en sodium, et d'utiliser des aliments de préparation industrielle dont le goût, fade naturellement, est rééquilibré par adjonction de sel. Il faut noter que si un malade souffrant d'une des affections énumérées ci-dessus consomme 2,5 L d'eau contenant 125 mg/L de sodium, il absorbe ainsi 64 % de la quantité permise s'il est soumis au régime recommandé de 500 mg/j de sodium. Certains auteurs insistent même pour que de tels sujets boivent uniquement de l'eau permutée. Il faut par ailleurs se souvenir que l'adoucissement par résines échangeuses d'ions de l'eau entraîne une élévation de la teneur en sodium : une élimination de 1 mg de dureté (en carbonate de calcium) se traduit par une élévation de 0,5 mg/L de sodium. Éventuellement, la régénération des résines peut s'effectuer avec du chlorure de potassium. Si les circonstances nécessitent un adoucissement, le procédé à la chaux est préférable du point de vue sanitaire.

Certaines eaux minérales contiennent des quantités élevées de sodium (Vichy, Vals, Saint-Galmier, *voir* tableau de l'annexe 10.9) et l'apport alimentaire est à considérer (viande, 800 mg/kg ; volailles, 700 mg/kg ; lait, 500 mg/kg ; fruits, 10 mg/kg ; légumes, 300 mg/kg).

Dans les zones désertiques, l'utilisation des eaux fortement salées présente des difficultés en raison du goût et de l'action laxative des sels associés. Toutefois, les eaux contenant 3 à 5 g/L de minéralisation (soit environ 1 g/L de sodium) paraissent physiologiquement tolérables, que le sujet soit acclimaté ou non. Leur emploi implique cependant l'exclusion radicale du sel de l'alimentation, comme le font les sahariens : l'eau salée utilisée pour la préparation des aliments et de la boisson (thé) introduit suffisamment de sel pour qu'il ne soit pas nécessaire d'en rajouter.

L'accroissement des besoins en sel pour lutter contre la chaleur est généralement le fait de sujets non acclimatés, incapables d'équilibrer l'ingestion de sels et son excrétion au niveau le plus bas. Pour le sujet acclimaté, la thermolyse ne demande plus de sel, mais seulement de l'eau.

L'OMS recommande une valeur limite de 200 mg/L, fixée d'après des critères gustatifs. Dans l'état actuel des choses, il n'existe pas d'argument suffisant pour justifier la fixation d'une valeur indicative pour le sodium dans l'eau sur la base d'un risque sanitaire. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient comme niveau guide 20 mg/L de sodium et comme concentration maximale admissible 150 mg/L avec un percentile de 80. L'ancienne réglementation française retenait cette même valeur de 150 mg/L avec un percentile de 80. Les réglementations actuelles (européenne et française) intègrent le sodium dans les références de qualité avec une valeur de 200 mg/L.

Une concentration limite de 2 à 3 mg/L est recommandée pour l'eau d'alimentation des chaudières à haute pression.

Du point de vue agricole, le sodium est un élément des bases alcalines et alcalinoterreuses jouant un rôle dans le maintien de la perméabilité des sols pour l'irrigation. On utilise assez souvent un coefficient correspondant au pourcentage de sodium ; celui-ci est donné par la formule suivante :

$$\% \text{ Na} = \frac{(\text{Na} + \text{K})\ 100}{\text{Ca} + \text{Mg} + (\text{Na} + \text{K})}.$$

Le chiffre de 60 % est considéré comme limite maximale pour les usages agricoles.

Solvants chlorés

Voir Hydrocarbures chlorés aliphatiques.

Strontium

Strontium stable

Le strontium, métal alcalinoterreux, a quatre isotopes naturels (^{84}Sr : 0,55 %, ^{86}Sr : 9,75 %, ^{87}Sr : 6,96 %, ^{88}Sr : 82,74 %). Il a des propriétés très proches de celles du calcium auquel il est généralement associé. Certaines eaux peuvent en contenir plusieurs dizaines de milligrammes par litre. Le strontium est utilisé dans l'industrie électronique et pour la pyrotechnie (flamme rouge). Ses propriétés physiopathologiques sont les mêmes que celles des composés du baryum. Cependant, ses composés sont considérés comme peu dangereux. La majorité (99 %) du strontium retenu dans l'organisme est fixée dans le squelette ; l'élimination rénale est la plus importante. La littérature est très limitée en matière d'intoxications par le strontium stable ; les intoxications légères se caractérisent par un syndrome gastro-intestinal (vomissements, diarrhées).

Strontium radioactif

Parmi les 16 isotopes radioactifs du strontium, les plus importants sont le strontium 85 de période 64,8 jours, le strontium 89 de période 50,5 jours et le strontium 90 de période 29,1 ans. En quasi-totalité d'origine artificielle, le strontium 90 est l'un des principaux radionucléides issus des retombées des essais nucléaires militaires dans l'atmosphère de 1945 à 1980. Créé par fission dans les réacteurs nucléaires, on le trouve aussi dans les rejets d'effluents des centrales nucléaires et des usines de retraitement. Il peut être émis lors d'accidents d'installations nucléaires. Lors de l'accident de Tchernobyl en 1986, environ 8 000 TBq de strontium 90 ont été rejetés dans l'atmosphère. En France les retombées ont été de l'ordre de 1 à 600 Bq.m-2. Dans le sol, le strontium, qui se trouve essentiellement sous forme de cation divalent Sr2+ et peut se substituer au calcium Ca2+ (Groupe des alcalino-terreux) et au potassium K+, fait partie des radionucléides moyen-

nement mobiles dans les sols. Dans les organismes animaux, son métabolisme est lié à celui du calcium. Le strontium se fixe donc préférentiellement (90 %) sur les tissus osseux (a). La chaîne alimentaire constitue la principale voie d'apport du strontium à l'homme.

Le strontium 90 conduit par désintégration β à l'yttrium 90, lui-même émetteur β de période radioactive courte (64h). Les méthodes de mesurage du strontium 90 ont été décrites au paragraphe 8.5 de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles ».

Pour le public, les coefficients de dose de la Directive Européenne 96/29/EURATOM du 13 mai 1996 considèrent un temps d'intégration de 50 ans pour l'adulte et jusqu'à l'âge de 70 ans pour l'enfant et des débits respiratoires moyens respectifs de 0,9 m3.h-1 et de 0,2 m3.h-1. Ils sont présentés dans le tableau ci-dessous (b) :

		Dose efficace (Sv/Bq)	
		Adulte	Enfant (1-2 ans)
Inhalation	Aérosol type M, AMAD=1 µm	$3,74 \times 10^{-8}$	$1,7 \times 10^{-7}$
Ingestion		$3,0 \times 10^{-8}$	$9,3 \times 10^{-8}$

AMAD : diamètre aérodynamique moyen en activité.

Pour les travailleurs, les coefficients de dose de la Directive Européenne 96/29/EURATOM 13 mai 1996, établis en considérant un temps d'intégration de 50 ans et un débit respiratoire moyen de 1,2 m3.h-1, sont donnés dans le tableau suivant (b) :

		Dose efficace (Sv/Bq)
		Travailleur
Inhalation	Aérosol type F, AMAD=5 µm	$3,0 \times 10^{-8}$
Ingestion		$2,8 \times 10^{-8}$

AMAD : diamètre aérodynamique moyen en activité.

L'indicateur de radiotoxicité du strontium 90 est 2 (forte).

Dans l'Union Européenne, les normes d'interdiction de commercialisation instaurées depuis 1987 pour l'éventualité d'un accident futur [Règlements Euratom 3954/87, 2218/89] sont les suivantes (b), voir tableau page suivante :

Denrées alimentaires prêtes à la consommation			
Aliments pour le nourrisson	Produits Laitiers	Autres denrées alimentaires	Liquides destinés à la consommation
75 $Bq.kg^{-1}$	125 $Bq.kg^{-1}$	750 $Bq.kg^{-1}$	125 $Bq.kg^{-1}$

Bibliographie

(a) Fiche radionucléide IRSN. Strontium et environnement. 25/07/2005.

(b) Fiche radionucléide IPSN. Strontium 90 + Yttrium 90. Aspects sanitaires. 1ère Ed., 01/08/2001.

Styrène

Cet alkylbenzène (cf. § A-10.15) est un liquide constitué par un noyau benzénique sur lequel est fixée une chaîne latérale non saturée résultant de la fixation d'un radical vinyl très réactif ; il se polymérise lentement à température ambiante. Le styrène est utilisé dans l'industrie chimique des matières plastiques, dans l'industrie du caoutchouc synthétique et dans la fabrication des copolymères. Son emploi dans les emballages alimentaires a été controversé mais sa nocivité n'a pu être établie, en raison de son faible passage dans les aliments. Les résultats expérimentaux n'ont pas permis d'établir avec certitude son pouvoir carcinogène. Il n'apparaît pas qu'il ait une action tératogène et, en ce qui concerne la mutagénicité, les études expérimentales sont contradictoires. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide de 20 µg/L. Elle précise que les seuils d'odeur et de goût se situent entre 4 et 2 600 µg/L ; il convient de respecter ces valeurs pour éviter les plaintes des consommateurs.

Sulfates

La concentration en ion sulfate des eaux naturelles est très variable (cf. § A-7.49). Dans les terrains ne contenant pas une proportion importante de sulfates minéraux, elle peut atteindre 30 à 50 mg/L, mais ce chiffre peut être très largement dépassé (jusqu'à 300 mg/L) dans les zones contenant du gypse ou lorsque le temps de contact avec la roche est élevé.

En France, plus de 80 % des eaux superficielles ont une concentration inférieure à 100 mg/L.

La combustion des produits fossiles (charbon, fuel) et l'utilisation des hydrocarbures émettant des composés soufrés contribuent à la formation de pluies acides avec une augmentation de la teneur en sulfates. Sous l'action de bactéries sulfato-réductrices, peuvent se former des sulfures donnant lieu à des précipités de sulfure de fer. Dans certains terrains contenant des sulfures métalliques (fer, nickel, cuivre, etc.), leur oxydation peut donner des sulfates. L'emploi de sulfate d'aluminium ou de sulfate de fer

pour le traitement de coagulation des eaux peut contribuer à une élévation de la teneur en sulfates.

La teneur en sulfates des eaux doit être reliée aux éléments alcalins et alcalinoterreux de la minéralisation. Suivant ceux-ci, et selon l'intolérance des consommateurs, il est susceptible d'en résulter des troubles gastro-intestinaux, en particulier chez l'enfant. Toutefois l'action laxative plus importante en présence de magnésium s'estompe rapidement avec l'accoutumance.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (goût, corrosion), l'OMS recommande comme valeur limite 250 mg/L. Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française retiennent cette dernière valeur de 250 mg/L (SO_4). L'organisme est suceptible cependant de supporter des doses plus élevées, sans inconvénient majeur autre qu'une action laxative temporaire.

La présence de sulfates en quantité supérieure à 300 mg/L peut entraîner dans certaines conditions une attaque du béton et accélérer la corrosion du fer. Par contre, dans les installations de production d'énergie électrique, l'injection d'acide sulfurique qui modifie le titre alcalimétrique complet (*TAC*), permet de limiter les problèmes d'entartrage dans les circuits de réfrigération. La neutralisation d'un degré français de *TAC* nécessite l'injection d'un degré français d'acide pur, soit, dans le cas de l'acide sulfurique, une quantité de 9,8 g par m^3 d'eau à traiter ; en conséquence, il se produit 9,6 g de sulfates par m^3 et par degré *TAC* vacciné qui se retrouveront dans les rejets. Des teneurs limites en sulfates sont nécessaires pour certaines industries (textiles, brasseries, sucreries, etc.). En agriculture, des concentrations élevées (plusieurs centaines de milligrammes par litre) peuvent poser des problèmes, pour l'irrigation et l'abreuvage. Une teneur supérieure à 480 mg/L rend l'eau impropre à l'agriculture.

En ce qui concerne l'écotoxicité éventuelle des sulfates, certains auteurs qualifient de « normales » les eaux présentant une concentration en sulfates inférieure ou égale à 20 mg/L et de « particulières, plus ou moins séléniteuses ou polluées » les eaux de concentration comprise entre 20 et 120 mg/L. Si, d'une façon générale, les eaux très chargées en sulfates ne sont pas favorables à la vie piscicole, les peuplements de poissons ne semblent pas être altérés dans les cours d'eau présentant des teneurs élevées. Ainsi, le peuplement des truites du Verdon est important malgré des concentrations moyennes en sulfates et chlorures de l'ordre de 100 mg/L.

Sulfites

Les sulfites neutres (SO_3^{2-}), les sulfites acides ou disulfites (HSO_3^-) et les métadisulfites ou pyrosulfites ($S_2O_5^{2-}$) sont les sels du gaz anhydride sulfureux (SO_2) généralement classés sous le terme « sulfites ». Ces différents produits, solubles dans l'eau (cf. § A-7.50 et § A-11.4), dégagent une légère odeur d'anhydride sulfureux. La formation des différents sels est fonction

du *p*H et des constantes de dissociation. À un *p*H de 7,3, on trouve essentiellement un mélange de sulfites et de métadisulfites. En raison de leurs propriétés antioxydantes, les sulfites sont utilisés comme additifs alimentaires (boissons alcoolisées, pommes de terre, abricots, etc.). Leur présence dans l'eau est généralement due à des rejets en provenance d'ateliers de blanchiment (laine, soie, etc.), d'usines de fabrication de cellulose (pâte à papier, etc.) et d'unités de déchloration. Sont utilisées, par ailleurs, les propriétés réductrices des sulfites dans les eaux de chaudières pour éviter la corrosion liée à la présence d'oxygène dissous ; l'injection dans le circuit se fait habituellement en continu à la concentration de 20 mg/L. Cependant, un excès d'ions sulfites dans les eaux de chaudières peut avoir des effets néfastes car il abaisse le *p*H et peut alors développer la corrosion. En cas de rejet dans l'environnement, les sulfites se combinent à l'oxygène en donnant des sulfates. Le contrôle des sulfites dans le milieu est important étant donné leur toxicité vis-à-vis des poissons et des organismes aquatiques et leur demande très rapide en oxygène. Une eau potable de bonne qualité ne devrait pas en contenir.

Sulfures, hydrogène sulfuré

L'hydrogène sulfuré est un toxique majeur par inhalation. Dans les eaux, la présence de ce gaz et de sulfures est susceptible de provenir soit d'eaux usées, soit de pollutions industrielles (usines chimiques, papeteries, raffineries, etc.). Dans les eaux bien aérées et oxygénées, ils se transforment rapidement en sulfates. Toutefois, on peut en rencontrer des traces dans les eaux par ailleurs de bonne qualité (cf. § A-7.51 et A-11), par suite de la réduction des sulfates sous l'action de bactéries ; ce peut être le cas dans les eaux de puits ou de forage, de lacs, de marais et de réservoirs. Dans l'interprétation des résultats, il y aura lieu de tenir compte alors des signes d'une contamination azotée et de l'examen bactériologique. Des teneurs de quelques dizaines de µg/L donnent une odeur et une saveur caractéristiques à l'eau.

En présence de fer solubilisé, l'hydrogène sulfuré peut former des dépôts noirâtres sur les appareils sanitaires et le linge. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (odeur et goût), l'OMS recommande comme valeur guide 0,05 mg/L. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes et l'ancienne réglementation française relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine précisaient que l'hydrogène sulfuré ne devait pas être détectable organoleptiquement.

L'hydrogène sulfuré à l'état libre peut être facilement éliminé par aération.

Les sulfures sont souvent invoqués comme responsables du mauvais fonctionnement des stations d'épuration biologique. Ils sont en fait le signe de la mauvaise condition des effluents, due à des fermentations anaérobies, prenant généralement naissance lors des stases des eaux usées dans les réseaux. Il faut se rappeler qu'un individu élimine par jour environ 1,2 g de soufre (S) dont une partie est aisément libérable sous forme sulfhydrique.

Dans le cas d'une arrivée brutale d'eau putride, le développement des boues activées peut être stoppé si les teneurs en sulfures dépassent 20 mg/L. Par contre, si la concentration en sulfure augmente progressivement, une certaine adaptation de la vie bactérienne peut intervenir pour des teneurs allant jusqu'à environ 120 mg/L. Des dégradations importantes, en particulier au niveau de canalisations d'égouts, notamment dans les parties humides habituellement non immergées, sont assez souvent observées. Ces phénomènes sont de nature biologique et se développent par l'intervention de microorganismes du cycle du soufre (minéral et organique). Sous leur action, il peut y avoir minéralisation du soufre organique avec des processus d'oxydation et de réduction et apparition d'acide suflhydrique, d'anhydride sulfureux et sulfurique et enfin d'acide sulfurique qui fragilise le béton en donnant du sulfate de calcium. Au cours de ces phénomènes biochimiques largement influencés par la température et le *p*H, la libération d'hydrogène sulfuré constitue un risque majeur pour le personnel, en raison de sa toxicité élevée et une nuisance générale, du fait de son odeur nauséabonde.

Sulfure de carbone

Le sulfure de carbone est très peu soluble dans l'eau, par contre il est miscible avec d'autres solvants organiques. Avec l'eau, il forme un mélange azéotrope dont la température d'ébullition est de 42,6 °C. Il est employé comme solvant et comme produit de base dans l'industrie chimique organique et entre dans la composition de certains désinfectants et insecticides. Il est aussi utilisé dans l'industrie électronique pour la fabrication de tubes sous vide.

Sa présence dans l'eau peut être reliée à des déversements intempestifs ; dans le cas des nappes phréatiques, la persistance de la contamination peut être importante. Dans les eaux usées, l'action microbienne peut conduire à la présence de sulfure de carbone à partir de la décomposition des amino-acides des matières organiques. La voie d'intoxication principale est l'inhalation (paralysie respiratoire). Le sulfure de carbone est métabolisé soit par conjugaison avec les fonctions amines ou sulfhydryles libres des amino-acides, soit par métabolisation dans les microsomes hépatiques en donnant des intermédiaires réactifs. Le pouvoir mutagène n'a pas été mis en évidence expérimentalement chez l'animal ; en ce qui concerne le pouvoir carcinogène, les résultats expérimentaux sont contradictoires.

TA, TAC

Les valeurs relatives du titre alcalimétrique (*TA*) et du titre alcalimétrique complet (*TAC*) permettent de connaître les quantités d'hydroxydes, de carbonates ou d'hydrogénocarbonates alcalins ou alcalinoterreux présents dans l'eau.

Dans certaines installations de production d'énergie, la réfrigération atmosphérique par tirage naturel peut conduire, du fait de la concentration en sels dissous et de certaines conditions physico-chimiques, à des phénomènes

d'entartrage. Il est possible d'y remédier par une décarbonatation partielle de l'eau d'appoint avec l'inconvénient d'une forte utilisation d'eau et de réactifs et une production importante de boues humides, d'où le développement de traitements dits de vaccination pour limiter l'entartrage.

Dans ces installations, la précipitation du carbonate de calcium dépend de la concentration en calcium ou dureté calcique (*TH*), du titre alcalimétrique complet (*TAC*), du potentiel hydrogène (*p*H), et de la température de l'eau dans les parties chaudes. L'évolution de ces différents paramètres dans les circuits de réfrigération est fonction des conditions naturelles (conditions météorologiques, caractéristiques de l'eau d'appoint, etc.) et des conditions d'exploitation (puissance thermique).

L'équilibre métastable peut donc intervenir d'une façon imprévue et provoquer un entartrage rapide.

Température

La température d'une eau potable devrait être inférieure en été et supérieure en hiver à la température de l'air. Pour que l'eau potable soit désaltérante, sa température doit se situer entre 8 et 15 °C ; entre 20 et 25 °C, elle désaltère mal. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes fixaient à 12 °C le niveau guide de la température de l'eau destinée à la consommation humaine, et à 25 °C, la température à ne pas dépasser. La réglementation française actuelle retient cette même valeur de 25 °C comme référence de qualité sauf en cas de traitement thermique pour la production d'eau chaude. L'OMS ne recommande aucune valeur. Pratiquement, la température de l'eau n'a pas d'incidence directe sur la santé de l'homme. Cependant, une température élevée (supérieure à 20 °C) favorise le développement des micro-organismes dans les canalisations en même temps qu'elle peut intensifier les odeurs et les saveurs. Par contre, une température inférieure à 10 °C ralentit les réactions chimiques dans les différents traitements des eaux.

Les eaux souterraines, dont la température au cours des saisons est d'environ 12 à 15 °C, sont évidemment moins sensibles aux variations de température que les eaux superficielles dont la température varie de 2 à 30 °C ; elles présentent l'avantage d'arriver dans le réseau de distribution à une température plus basse mais elles peuvent s'échauffer par la suite dans le réseau.

En ce qui concerne les rejets d'eaux chaudes, il est assez impropre de parler de « pollution » thermique car il s'agit plutôt d'une « nuisance » par réchauffement dont il faut distinguer les effets physiques, physico-chimiques et biologiques. L'élévation de température s'accompagne d'une modification de la densité qui décroît lorsque la température croît, d'une réduction de la viscosité, d'une augmentation de la tension de vapeur saturante à la surface (évaporation), d'une diminution de la solubilité des gaz (oxygène). Quelques-uns de ces effets peuvent avoir une action bénéfique ; c'est ainsi, par exemple, que l'augmentation de la température favorise l'auto-épuration et accroît la vitesse de sédimentation, ce qui peut présenter un intérêt dans les stations d'épuration. Dans l'eau de mer réchauffée, la production biologique est améliorée.

L'effet catalytique des enzymes, fonction de la température, passe par un maximum entre 33 et 35 °C. Mais, toutes ces réactions consomment de l'oxygène ; si leur importance augmente, la teneur en oxygène dissous diminue et il peut alors apparaître de l'hydrogène sulfuré, du méthane, des chaînes partiellement oxydées, avec comme conséquence des odeurs et des goûts désagréables. L'accroissement du développement des algues peut conduire à un colmatage des filtres des installations.

Les rejets d'eaux chaudes paraissent favoriser le développement d'espèces comme l'amibe *Naegleria fowleri* qui peuvent être à l'origine de méningo-encéphalites amibiennes primitives, à évolution le plus souvent fatale. Ces amibes peuvent se développer à partir de 20 °C mais la température idéale pour leur prolifération se situe autour de 30 °C.

Dans les circuits d'eaux chaudes la croissance de certains microorganismes est favorisée par une température élevée (supérieure à 30 °C). Parmi les microorganismes pathogènes opportunistes qui se développent au sein de biofilms adhérant sur la paroi in terne des canalisations se trouve la légionelle (*Legionella pneumophila*) impliquée dans de nombreux épisodes de contamination des réseaux et dans des épidémies de légionellose. Plus de 1 400 cas par année ont été enregistrés au cours des années 2005 à 2007, avec une létalité qui a progressivement diminué pour s'établir sur cette même période autour de 10 %, alors qu'elle dépassait 20 % entre 1997 et 2001. Dans la majorité des cas, les épisodes de légionellose surviennent en période chaude, lorsque l'élévation de température est maximale et que les installations de refroidissement fonctionnent à un régime élevé.

La source principale de nuisance thermique pour les eaux de surface est constituée par les centrales thermiques (70 à 80 %), le reste étant lié à la métallurgie, aux industries chimiques et alimentaires, etc. Cette prépondérance des centrales thermiques est due à l'accroissement de la consommation électrique nationale et à une extension de ce type d'installations par rapport aux centrales hydrauliques. À ce propos, il convient de faire une différence entre le « prélèvement » et la « consommation » d'eau. Le prélèvement consiste à dériver une partie du débit d'un cours d'eau et à la restituer après usage. Par contre, la consommation correspond à la quantité d'eau dérivée dans une installation et non rejetée à proximité du point de dérivation ; l'eau a été soit évaporée, soit restituée après un cheminement plus ou moins long. Les circuits de refroidissement dits « ouverts » rejettent la totalité des calories à la rivière ou à la mer ; par contre, les circuits dits « fermés » ne rejettent que 5 % environ des calories au milieu aquatique, le reste étant libéré dans l'atmosphère.

En France, les prélèvements effectués au cours de la dernière décennie pour le refroidissement des centrales thermiques (classiques ou nucléaires) sont de l'ordre de 18 milliards de m^3/an avec une consommation nette de l'ordre de 600 millions de m^3. Ces besoins sont liés en particulier au développement du programme nucléaire. En effet, pour une centrale thermique classique, le rendement est de l'ordre de 40 %, l'énergie restante étant éliminée par le système de refroidissement (45 %) et sous forme de gaz chauds (15 %). Par contre, pour une centrale nucléaire (PWR) dont le

rendement est de 33 %, c'est 67 % de l'énergie produite qui est éliminée par le système de refroidissement.

Le rendement plus élevé des centrales à neutrons rapides (plus de 40 %) permet des rejets thermiques sensiblement plus faibles que pour les PWR. Ainsi, pour une centrale de 3 000 MW_{th} donnant 1 200 MW_e, les rejets thermiques sont de l'ordre de 1 800 MW_{th} .

Généralement, l'ordre de grandeur du relèvement des températures de l'eau de réfrigération dans les condenseurs est d'environ 12 °C. Une tranche classique de 600 MW_e utilise 22 m^3/s d'eau qui sont échauffés de 7 °C avec un volume prélevé de 144 litres par kWh produit. Des tranches nucléaires (PWR) de 900 MW_e et de 1 300 MW_e utilisent respectivement 41 m^3/s et 45 m^3/s d'eau qui sont échauffés de 10,8 °C et de 13,8 °C avec des volumes prélevés respectifs de 164 et 130 litres. Une tranche nucléaire (surgénérateur) de 1 200 MW_e utilise 36 m^3/s d'eau qui sont échauffés de 11 °C avec un volume prélevé de 108 litres par kWh produit. Toute l'énergie qui n'a pas été récupérée dans la turbine est transmise au milieu aquatique. En pratique, on observe les valeurs suivantes : thermique classique : 4,18 MJ/kWh1(*), thermique nucléaire : 6,27 à 7,5 MJ/kWh. Il faut noter que l'écart de température entre l'eau sortant du réfrigérant et celle du cours d'eau est plus important en hiver (12 à 15 °C) qu'en été (4 à 5 °C). Dans ces conditions, l'incidence du choc thermique serait plus faible lors de l'étiage en été. L'utilisation de tours de réfrigération peut permettre de limiter la température du rejet ; ainsi pour une puissance installée de 5 000 MW_e, le débit prélevé est de l'ordre de 10 m ^{3}/s et la consommation nette par évaporation de l'ordre de 3 m ^{3}/s, alors que pour une réfrigération à circuit ouvert, les débits d'eau prélevés seraient de l'ordre de 160 à 180 m^3/s. Les réfrigérants peuvent être soit à tirage naturel, soit à tirage forcé ; dans ce cas, l'air est pulsé par des ventilateurs. Quant à la réfrigération sèche, elle utilise le système du radiateur ventilé, malheureusement onéreux en investissement. Comme il n'y a pas de solution idéale, il faut rechercher la meilleure façon d'éliminer ces calories par la dispersion des centrales et une bonne utilisation des possibilités locales. Pratiquement en Europe, les possibilités de nouvelles installations le long des cours d'eau sont limitées. Il faudra donc envisager pour l'avenir un accroissement des installations dans les régions côtières si l'on souhaite utiliser un circuit ouvert. L'appréciation de l'échauffement d'une rivière par un rejet thermique est assez complexe et fonction des échanges entre la rivière et l'air et des dilutions par le fleuve et ses affluents. Dans le cours de la journée, les échanges avec l'atmosphère sont fonction de l'heure et des conditions météorologiques. Tous ces phénomènes présentent un caractère aléatoire : pour l'étude d'un projet, l'estimation de la dispersion thermique peut s'appuyer sur des modèles mathématiques par l'établissement du bilan d'énergie d'un plan d'eau. Indépendamment des problèmes de réemploi de l'eau par l'agriculture, les cultures aquatiques, les usages industriels, il y aura toujours lieu de se préoccuper des modifications de l'écologie des eaux superficielles liées à l'échauffement. Au cours du transit de l'eau dans les circuits de refroidissement, les organismes qu'elle contient (plancton, larves,

1. MJ/kWh = mégajoule par kilowatt-heure.

jeunes poissons) sont soumis, indépendamment des chocs mécaniques, à des chocs thermiques liés à l'accroissement très rapide de la température (8 à 15 °C). Par ailleurs, dans le milieu aquatique de dispersion du rejet, les élévations de température supérieures à 4 °C peuvent être nuisibles pour le poisson et favoriser la mortalité de certaines espèces et le développement de certaines autres. Il existe cependant une certaine acclimatation variable suivant la température et les espèces.

La réglementation est très diversifiée à travers le monde. En France, tout rejet dans le milieu dont la température est supérieure à 30 °C est soumis à autorisation ; de plus, si la température de l'effluent rejeté est comprise entre 25 et 30 °C et le débit du rejet égal ou supérieur à 10 L/s, une autorisation est également nécessaire, l'arrêté d'autorisation d'un rejet précisant dans tous les cas la valeur maximale de la température qui ne pourra être dépassée par l'effluent rejeté.

La température maximale de l'effluent devra être telle que l'élévation de la température et sa valeur maximale à la limite de la zone de mélange soient compatibles avec les vocations du milieu et respectent notamment les valeurs suivantes :

	Élévation maximale de température	**Température maximale**
Eaux salmonicoles	1,5 °C	21,5 °C
Eaux cyprinicoles	3 °C	28 °C
Eaux destinées à la production d'eau alimentaire	–	25 °C

En ce qui concerne l'élévation maximale de température, des dérogations peuvent être accordées par le Préfet après avis de la mission déléguée de bassin s'il est estimé que cette dérogation n'aura pas de conséquence nuisible pour le développement équilibré des peuplements de poissons. En ce qui concerne la température maximale, il peut être dérogé dans les mêmes conditions en raison de circonstances météorologiques exceptionnelles ou de circonstances géographiques spéciales.

La directive du Conseil des communautés européennes du 18 juillet 1978 indique les mêmes valeurs que ci-dessus tant pour les eaux salmonicoles que pour les eaux cyprinicoles mais prévoit dans les deux cas une limite de température de 10 °C qui ne s'applique qu'aux périodes où des espèces ont besoin d'eau froide pour leur reproduction, et uniquement aux eaux susceptibles de contenir de telles espèces. Par ailleurs, elle stipule que les limites de température peuvent être dépassées pendant 2 % du temps. Pour les eaux conchylicoles, la directive du Conseil des communautés européennes du 30 octobre 1979 recommande que l'écart de température provoqué par un rejet ne doit pas excéder de plus de 2 °C la température mesurée dans les eaux non influencées. D'une façon générale, plutôt que de se fixer sur une température de rejet, il y a lieu de prendre en considération le flux thermique apporté, comparé à la capacité de

refroidissement du milieu récepteur. Si cette dernière est importante, il peut être acceptable d'adopter une attitude de tolérance pour certaines périodes limitées, en particulier lorsque l'eau n'est pas utilisée pour les besoins des populations.

Thallium

Le thallium se rencontre dans la nature sous forme d'impuretés dans les pyrites et les blendes. Il ne se trouve pas habituellement dans les eaux naturelles mais on peut le retrouver dans les eaux résiduaires des industries de fabrication de produits insecticides et raticides, de cellules photo-électriques, de verres d'optique, de lampes et de pâtes dépilatoires (cf. § A-7.52).

Ce toxique, dont la physiopathologie est très complexe, s'accumule dans l'organisme et développe des symptômes d'intoxication très variés (syndrome gastro-intestinal, manifestations périphériques, troubles neurologiques du système central, alopécie). La dose mortelle chez l'adulte se situe entre 1 et 2 g.

Thiocyanates

La décomposition des matières organiques, en particulier dans les rejets d'eaux usées, peut conduire à la formation de thiocyanates. Les rejets industriels des aciéries, des raffineries de pétrole, de gazéification de charbon peuvent en contenir des quantités significatives (cf. § A-7.53). Leur toxicité est relativement faible. Cependant, lorsqu'ils sont soumis à une chloration, il peut se former du chlorure de cyanogène volatil qui est très toxique. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande pour le chlorure de cyanogène (sous forme de CN) une valeur guide de 70 µg/L.

Voir aussi Chlorure de cyanogène, cyanures.

Thorium

Le nom du thorium donné par Berzelius en 1828, vient de celui de Thor, dieu scandinave du tonnerre. C'est un métal gris-blanc qui se recouvrant d'une couche d'oxyde ThO2 ternit lentement à l'air jusqu'à devenir noir. Le principal minerai de thorium est la monazite. Le thorium appartient à la série des actinides et se rencontre en solution au degré d'oxydation +4 avec une chimie semblable à celle des actinides tétravalents comme Pu4+. D'origine naturelle, le thorium est 3 à 4 fois plus abondant que l'uranium dans la croûte terrestre. On le rencontre dans les chaînes de désintégration de l'uranium naturel. Il présente 13 isotopes radioactifs de masses atomiques allant de 212 à 236. Le thorium 232, émetteur alpha de période 1,4 x 1010 ans qui donne le radon 228, est l'isotope le plus important parce qu'il représente presque 100% du thorium naturel et qu'il est un isotope fertile capable d'absorber un neutron thermique en produisant l'uranium 233 fissile (a). Le cycle du combustible thorium est utilisé dans des réacteurs

nucléaires expérimentaux au Canada et en Inde mais il n'est pas exploité commercialement car il nécessite beaucoup de recherche et développement pour résoudre les problèmes techniques alors que l'uranium est disponible en abondance.

Dans la biosphère, le thorium est la conséquence des activités industrielles du cycle du combustible nucléaire (mines d'uranium, traitement des déchets), des retombées atmosphériques dues aux accidents comme celui de la centrale de Tchernobyl, et de l'utilisation agricole d'engrais phosphatés. Du fait de sa très faible solubilité, la mobilité du thorium est liée à l'existence de colloïdes organo-minéraux complexants et mobiles dans le sol (a).

De même toxicité chimique que l'uranium, le thorium a une radiotoxicité supérieure à cause de ses descendants, émetteurs alpha et béta (a). L'indicateur de radiotoxicité du thorium 232 est 2 (forte) au sens du décret 88-521 du 18/04/88 (b). Comme la famille de l'uranium 238 et le potassium 40, la famille du thorium 232 contribue pour un tiers environ à l'exposition externe totale subie sur un sol standard, typiquement entre 10 et 200 nGy h-1) (c).

Les fortes doses résultant de l'injection par voie intraveineuse d'une solution contenant 20 % à 25 % de thorium sous forme d'oxyde à plusieurs millions de patients ont permis d'en connaître les conséquences. La présence de grains de thorium accumulés dans des organes tels que le foie, le rein, la rate, la moelle osseuse, en soumettant pendant des années ces tissus à une forte irradiation alpha, est responsable de cancers du foie, ainsi que de cancers plus rares du poumon, survenus plus de 20 ans après l'injection (b).

Pour le public et le thorium 232, les coefficients de dose efficace de la Directive Européenne 96/29/EURATOM du 13 mai 1996 établis en considérant un temps d'intégration de 50 ans pour l'adulte et jusqu'à l'âge de 70 ans pour l'enfant sont de 1.10-6 Sv/Bq pour l'adulte et de 6,9.10-6 Sv/Bq pour l'enfant (1-2 ans) dans le cas de l'ingestion. Pour les travailleurs, le coefficient de dose efficace, établi en considérant un temps d'intégration de 50 ans, est de 2,3.10-7 Sv/Bq dans le cas de l'ingestion (b).

Bibliographie

(a) Fiche radionucléide IRSN. Thorium 232 et environnement. 11/04/2002.

(b) Fiche radionucléide IPSN. Thorium 232 et ses descendants à l'équilibre. Aspects sanitaires. 1e Ed., 01/08/2001.

(c) A. Rannou (1999). Radioprotection Vol. 34, N° 4, 505-519.

Titane

Le titane est très diversement répandu dans la nature où il se rencontre sous forme d'oxydes de titane (TiO_2, 0,1 à 2 %), d'oxydes associés au fer (ilménite : TiO_3, Fe) et de silico-titanate de calcium (SiO_2, TiO_2, CaO).

Le métal est donc entraîné dans les eaux superficielles (cf. § A-7.56) par le lessivage et l'érosion des sols et il suit ensuite les phénomènes habituels de précipitation et de sédimentation.

Le titane métallique reste dur, ne fond qu'à 1 800 °C ; ses dérivés oxygénés sont nombreux, le plus important étant l'oxyde de titane (blanc de titane) qui est généralement associé au sulfate de baryum et au phosphate de calcium. Il est recherché pour les peintures en raison de sa stabilité à la lumière, de son pouvoir réfléchissant et de son absence de toxicité. Le titane entre dans la composition de nombreux alliages avec le carbone, le tungstène, qui sont les plus utilisés dans les industries aérospatiales et électro-techniques. De nombreuses expérimentations ont montré l'absence de toxicité du titane, en particulier par la voie digestive, et à ce jour, il n'a pas été rapporté de cas d'intoxication. Les observations récentes sur les rejets en mer de cet élément n'infirment pas ces résultats.

Trihalométhanes

Voir Organochlorés volatils.

Tritium

L'hydrogène a trois isotopes : l'hydrogène léger (ou protium) qui est le plus abondant (~99,98%), le deutérium (~0,015%) constitué d'un proton et d'un neutron et le tritium (un atome de tritium pour 1018 atomes d'hydrogène) constitué d'un proton et de deux neutrons. Découvert en 1934 par Rutherford et identifié par Alvarez en 1937, le tritium représenté par 3H ou T a les mêmes propriétés chimiques que l'hydrogène léger. Sa forme la plus abondante dans la biosphère est l'eau tritiée HTO, légèrement plus lourde que l'eau légère H2O. La différence de masse entre les isotopes H et T, qui se manifeste dans les changements d'état, l'évaporation, la condensation ou la solidification, entraîne un faible enrichissement isotopique en tritium de la phase condensée (a-c).

À l'état naturel, le tritium provient de l'action des rayonnements cosmiques sur l'azote, l'oxygène et l'argon de l'air. Environ 99% ainsi produit est transformé en eau tritiée et intègré au cycle de l'eau (pluie, cours d'eau, océan, évaporation...). L'UNSCEAR estime en 1993 l'inventaire global du tritium naturel à environ 1,3.1018 Bq. La production annuelle de tritium d'origine naturelle est comprise entre 5 et 7.1016 Bq (soit entre 0,15 et 0,20 kg). Le tritium d'origine artificielle provient des retombées des essais d'armes thermonucléaires dans l'atmosphère dans les années 1950-1970, mais aussi des réacteurs nucléaires et des rejets des usines de retraitement de combustibles irradiés. Les essais militaires ont rejeté 2,4.1020 Bq, environ 650 kg de tritium de 1945 à 1963. En 1995 du fait de la désintégration radioactive du tritium, il en restait environ 65 kg dans l'atmosphère et les océans. Dans les réacteurs nucléaires, le tritium formé par activation neutronique d'éléments légers (bore, lithium) du circuit primaire de refroidissement, constitue la majeure partie des rejets et varie avec la puissance du réacteur, du type de combustible et de son taux de combustion. De 1995 à 1997, les réacteurs à eau légère ont rejeté chacun en moyenne 2,4.1012 Bq de tritium gazeux (HT) et 1,9.1013 Bq d'eau tritiée par an (4) (UNSCEAR

2000). Le tritium formé dans la fission ternaire de l'uranium et du plutonium reste en grande partie dans le combustible et dans les gaines de zircaloy des crayons de combustible. Il est libéré lors des opérations de retraitement du combustible usé. Les rejets des usines de retraitement de combustibles irradiés s'élèvent à 10.1015 Bq de tritium pour 1600 tonnes de matériaux traités annuellement (a-c).

Les limites des rejets radioactifs liquides en tritium données dans des tableaux relatifs aux centrales nucléaires de production d'électricité (CNPE) de Chooz et à des installations nucléaires de base (INB) sont rassemblées dans le paragraphe 4.2.4 « Limites des rejets radioactifs liquides » de la partie D « Eaux résiduaires ». Les rejets annuels génériques en tritium d'un réacteur à eau pressurisée (REP) et d'une usine de retraitement sont donnés au paragraphe 4.2.5.

La méthode de détermination par scintillation liquide de l'activité volumique de l'eau tritiée applicable à tous types d'eau est décrite au paragraphe 8.6 « Tritium » de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles ».

Le tritium ^{3}H ou T de période 12,3 ans, émetteur de rayonnement bêta, appartient au groupe 4 de radiotoxicité (Décret 66-450 de 1966 modifié par le décret 88-521 du 18/04/1988), soit une radiotoxicité faible (4 niveaux, le niveau le plus élevé est le niveau 1). L'énergie du rayonnement bêta de 18,6 keV correspond à un parcours moyen de 0,56 mm dans l'eau et les tissus ; elle entraîne peu d'exposition externe. Les principales voies d'exposition au tritium sont l'ingestion lors de l'absorption d'aliments et d'eau, l'inhalation et l'absorption cutanée. La totalité de la quantité ingérée franchit la barrière gastro-intestinale et passe dans le sang. En s'échangeant avec l'hydrogène léger, le tritium peut le remplacer dans toutes les molécules biologiques (acides nucléiques ADN, ARN, protéines…). Le tritium « échangeable » est celui qui s'échange avec l'hydrogène labile de leurs fonctions OH, SH ou NH. Les effets biologiques du tritium sont les cassures simples ou double brins de l'ADN cellulaire, la mort cellulaire (apoptose) et les mutations potentiellement transmissibles. Ils dépendent de la dose et du débit de dose. Chez l'homme, l'hydrogène de l'eau est renouvelé avec une période biologique variant de 3 jours chez le nourrisson à 10 jours chez l'adulte. Le tritium « non échangeable », lié à un carbone par une liaison covalente stable, se trouve dans les sucres, graisses, protides, dégradés par la digestion et transférés dans le sang sous forme d'eau tritiée ou de molécules organiques tritiées. Il est renouvelé avec une période biologique variant de 8 jours chez le nourrisson à 40 jours chez l'adulte. L'élimination du tritium se fait sous forme d'eau tritiée dans les urines, les fèces, la transpiration et l'air expiré. En cas de contamination interne, il est procédé au contrôle journalier des urines et on stimule l'excrétion urinaire par administration de 6 à 8 litres d'eau par jour, la dilution isotopique faisant passer la période biologique de 10-12 jours à 3-4 jours.

Une dose annuelle d'environ 0,01 mSv est due à l'exposition au tritium d'origine naturelle. Les doses maximales dues aux retombées des essais d'armes nucléaires dans l'atmosphère ont été estimées à 7,2 mSv en 1962, 2,7 mSv en 1963 et inférieure à 0,01 mSv par an depuis le milieu des années 90. La dose liée à la production des installations nucléaires est estimée à 0,005 mSv/an (UNSCEAR 2000) (a-c).

Au plan sanitaire, quelques cas d'exposition aiguë (jusqu'à plusieurs TBq) ont été traités par diurèse « forcée » sans effet secondaire précoce ou tardif. Les études épidémiologiques ne mettent pas en évidence d'excès de cancers attribuables au tritium. Chez l'animal, des excès de cancers sont observés au-delà de doses de 100-200 mSv. Sur la base de ces résultats, l'effet biologique du tritium est similaire à celui d'une exposition externe gamma. L'EBR (efficacité biologique relative à un rayonnement X de 250 keV) est égale à 1. Les concentrations pour lesquelles des effets biologiques ou cancérogènes sont observables expérimentalement sont très supérieures aux concentrations mesurées dans l'environnement (quelques Bq/L ou dizaines de Bq/L). L'augmentation du taux de mutations, la mort cellulaire et les modifications chromosomiques sont observées au-delà de plusieurs kBq/mL (a-c).

Pour le public, les coefficients de dose efficace établis dans la Directive Européenne 96/29/EURATOM en considérant un temps d'intégration de 50 ans pour l'adulte et jusqu'à l'âge de 70 ans pour l'enfant et des débits respiratoires moyens respectifs de 0,9 m3.h-1 et de 0,2 m3.h-1, sont donnés dans le tableau suivant :

		Dose efficace (Sv/Bq) (c, d)	
		Adulte	Enfant (1-2 ans)
Inhalation	Eau tritiée	$1{,}8.10^{-11}$	$4{,}8.10^{-11}$
	Tritium organique (type M)	$4{,}1.10^{-11}$	$1{,}1.10^{-10}$
	AMAD = 1 µm	$1{,}8.10^{-15}$	$4{,}8.10^{-15}$
	Tritium gazeux	$1{,}8.10^{-13}$	$4{,}8.10^{-13}$
	Méthane tritié		
Ingestion	Eau tritiée	$1{,}8.10^{-11}$	$4{,}8.10^{-11}$
	Tritium organique	$4{,}2.10^{-11}$	$1{,}2.10^{-10}$

AMAD : diamètre aérodynamique moyen en activité.

Pour les travailleurs, les coefficients de dose efficace de la Directive Européenne 96/29/EURATOM 13 mai 1996, établis en considérant un temps d'intégration de 50 ans et un débit respiratoire moyen de 1,2 m3.h-1, sont identiques à ceux de la population adulte (c).

Dans l'eau potable, l'OMS a recommandé en 1993 une limite de 7800 Bq.l-1 (c). La plupart des recommandations nationales et internationales se fondent sur la dose de référence égale à 0,1 mSv/an, une consommation d'eau de 2 L/jour ou 730 L/an et un facteur de conversion de dose (FCD) pour les adultes publié par la CIPR [CIPR, 1996]. Le FCD représente une estimation de la dose efficace engagée sur 50 ans qui résulte d'une seule absorption de 1 Bq d'un radionucléide donné. Le calcul de la valeur de référence (VR) du tritium serait donc le suivant (e) :

VR = 1 × 10-4 Sv/an = 730 L/an × 1,8 x 10-11 Sv/Bq = 7 610 Bq/L

Les valeurs limites en tritium fixées dans différents pays sont données dans la référence (e). La Directive Européenne 98/83/CE du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine donne 100 Bq.l-1 comme « paramètre indicateur » du tritium (Annexe 1, Partie C) (c, f). Selon l'article 8, en cas de non-respect de cette valeur, les Etats membres examinent si ce non-respect présente un risque pour la santé des personnes et prennent des mesures correctives pour rétablir la qualité des eaux lorsque cela est nécessaire pour protéger la santé des personnes (f).

Bibliographie

(a) Le tritium (3H). CEA/ Direction des Sciences du Vivant, CARMIN.

(b) Fiche radionucléide IRSN. Tritium et environnement. 29/06/2001.

(c) Fiche radionucléide IPSN. Tritium. Aspects sanitaires. 1ère Ed., 01/08/2001.

(d) OMS, Guidelines for drinking water quality, World Health Organization, (3rd edition), vol. 1, Recommendations, Geneva 2004.

(e) Normes et recommandations sur le tritium dans l'eau potable. INFO-0766. Commission canadienne de sûreté nucléaire. Janvier 2008.

(f) Directive n°98/83/CE du 03/11/98 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. JOCE n° L 330 du 5 décembre 1998 et rectif. JOCE n° L 111 du 20 avril 2001.

Turbidité

La turbidité est liée à la présence de particules organiques diverses, d'argile, de colloïdes, de plancton, etc. (cf. § A-3.5) ; elle peut être favorisée par la pluviométrie.

Dans les eaux profondes, la turbidité empêche la propagation de la lumière dont la diminution d'intensité a pour conséquence de limiter et même d'éliminer la végétation. La plupart des eaux superficielles ont une turbidité importante et leur consommation directe est impossible. Il faut les clarifier, soit par décantation, soit par addition d'un coagulant, soit par filtration, soit encore par une combinaison de ces différents procédés. Dans certains cas particuliers, des turbidités occasionnelles peuvent avoir pour origine des anomalies dans le traitement, la corrosion des canalisations ou des entraînements de dépôts sur les parois.

La mesure de la turbidité, très utile pour le contrôle d'un traitement, ne donne pas d'indications sur la nature, la concentration,la taille des particules en suspension qui doivent faire l'objet de mesures spécifiques. La turbidité résiduelle constitue une gêne pour l'efficacité des traitements de décontamination microbienne. Il semblerait qu'une turbidité supérieure à 5 NTU limiterait la destruction des coliformes même si du chlore résiduel libre est conservé pendant une heure. Par ailleurs, les particules en suspension peuvent entraîner des goûts et odeurs désagréables. Le consommateur n'utilisera qu'avec réticence une eau trouble ; même si les qualités chimiques et bactériologiques sont satisfaisantes, il préférera une eau non contrôlée dont la limpidité sera parfaite. Si une eau potable doit être limpide, il n'est pas évident qu'une eau à faible turbidité soit potable.

Les normes concernant la turbidité de l'eau potable sont assez différentes et variables. L'OMS recommande comme valeur limite 5 unités NTU et

précise que dans le cas où l'on pratique la désinfection, il conviendrait que la turbidité soit inférieure à 1 NTU. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des Communautés européennes relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine précisaient pour la turbidité un niveau guide de 1 et une valeur maximale admissible de 10 exprimés en mg/L de SiO_2 et respectivement 0,4 et 4 exprimés en unités Jackson. Les directives européennes actuelles ne précisent plus de valeur limite pour la turbidité.

L'ancienne réglementation française indiquait que la turbidité des eaux ne devait pas être supérieure à une valeur équivalente à 1 unités Jackson. La réglementation française actuelle impose une valeur de 1 NFU (ou 1 NTU) pour la turbidité dans les limites de qualité. Cette limite doit s'appliquer au point de mise en distribution quand l'eau potable est produite à partir d'une eau superficielle (quelle qu'elle soit) ou d'une eau souterraine dont la turbidité initiale est supérieure à 2 NFU (ou NTU), sauf quand l'augmentation de turbidité est due à une étape finale de reminéralisation. La réglementation prévoit également une référence de qualité à une valeur de 0,5 NFU (ou NTU) au point de mise en distribution (dans les mêmes cas que précédemment) et de 2 au robinet du consommateur.

Il y a lieu de se souvenir que les unités généralement employées proviennent de la normalisation ASTM ; les trois unités suivantes sont considérées comme comparables :

– unité JTU (*Jackson Turbidity Unit*),

– unité FTU (*Formazine Turbidity Unit*),

– unité NTU ou NFU (*Nephelometric Turbidity Unit* ou *Nephelometric Formazide Unit*).

Uranium

L'uranium fut découvert par Klaproth en 1798 et sa radioactivité par Becquerel en 1896. C'est un métal gris de densité très élevée (18,7 g/cm3), supérieure à celle du plomb (11,3 g/cm3) ; il fond à 1133 °C. Son abondance moyenne dans la croûte terrestre est de 2 mg par kg et sa concentration moyenne dans l'eau de mer est de 3,3.10-3 ppm. Les principaux minerais sont la pechblende et l'uranite (a, b). Compte tenu des déstockages, la production mondiale des mines d'uranium a été de l'ordre de 35 000 t d'uranium en 2000, à peine plus de la moitié des besoins des réacteurs en exploitation. En France, l'extraction du minerai d'uranium s'est achevée en 2001 (c).

Il a quatre valences possibles de +3 à +6 ; On le trouve aux valences 4 et 6 selon le potentiel d'oxydo-réduction du milieu sous diverses formes chimiques dans les sols, les roches, les mers et les océans : en milieu oxydant, la valence +6 est la plus stable et la plus mobile, sous la forme de l'ion uranyle UO22+ ou de ses formes hydroxylées ou carbonatées quand le pH augmente ; en milieu réducteur, sous conditions anaérobies, l'uranium se trouve à la valence +4 et a tendance à précipiter. En eau douce, la spéciation de l'uranyle peut être influencée par la présence de ligands organiques,

en particulier les substances humiques qui forment des complexes d'uranyle stables (a).

À l'état naturel, l'uranium est un mélange de trois radioisotopes qui se désintègrent en émettant des rayonnements α et γ : l'uranium 238 (99,27 % de la masse totale) de période 4,5.109 ans, l'uranium 235 (0,72 %) de période 7,1.108 ans et l'uranium 234 (0,0054 %) de période 2,45.105 ans (a, b).

Les activités industrielles enrichissent en uranium certains sols, sédiments ou eaux continentales : le cycle du combustible nucléaire depuis l'exploitation de mines uranifères jusqu'au traitement des déchets, l'utilisation militaire d'uranium appauvri (uranium naturel dont le contenu en uranium 235 a été réduit de 0,7 à 0,2 %), le charbon dont la combustion conduit à l'émission atmosphérique d'uranium et l'utilisation agricole d'engrais issus de phosphates naturels riches en uranium 238. La plupart des réacteurs nucléaires ont besoin d'uranium enrichi en uranium 235 dont la teneur doit passer de 0,72 % à environ 3 %. Après séparation de la fraction enrichie, l'uranium appauvri se compose en général de 99,8 % d'uranium 238, 0,2 % d'uranium 235 et 0,0006 % d'uranium 234. La radioactivité de l'uranium appauvri se situe à 60 % de celle de l'uranium naturel. La densité élevée de l'uranium appauvri permet plusieurs applications civiles : contrepoids ou lest dans les avions, boucliers de protection contre les rayonnements dans le matériel médical utilisé pour les radiothérapies et dans les conteneurs servant aux transports des matières radioactives. Dans le domaine militaire, il est utilisé pour renforcer les véhicules militaires, comme les chars d'assaut, et dans les munitions destinées à pénétrer dans des plaques blindées (a, b).

La mesure de faibles activités d'uranium a été décrite au paragraphe 8.4.1 de la partie A « Analyse physico-chimique des eaux naturelles ».

On trouve de l'uranium dans l'eau de boisson et les aliments. L'organisme en contient normalement environ 90 µg provenant de l'eau, de l'alimentation et de l'air ; 66 % de cette quantité est dans le squelette, 16 % dans le foie, 8 % dans les reins et 10 % dans les autres tissus. La plus grande partie (>95%) de l'uranium pénétrant dans le corps n'est pas absorbée mais éliminée via les fèces. Environ 67 % de l'uranium absorbé dans le sang sont filtrés par les reins et excrétés dans l'urine en 24 heures (b). Typiquement entre 0,2 et 2 % de l'uranium contenu dans la nourriture et dans l'eau sont absorbés lors du transit gastrointestinal (b).

L'OMS recommande que l'ingestion de composés solubles de l'uranium par le public ne dépasse pas le seuil tolérable de 0,5 µg par kg du corps et par jour. Comme les composés insolubles de l'uranium sont nettement moins toxiques pour les reins, le seuil tolérable est de 5 µg par kg du corps et par jour (b). Dans l'eau de boisson, l'organisation mondiale de la Santé recommande une valeur guide de 2 µg/l en uranium naturel, fondée sur sa toxicité chimique (e).

Selon une étude récente, malgré les nombreuses études sur l'uranium depuis 200 ans, les valeurs LD50 pour intoxication aiguë chez les humains n'ont pas été correctement établies. Des concentrations élevées en uranium peuvent entraîner la mort par toxicité chimique chez les rats, les cobayes et d'autres petits animaux. Cependant, il semble qu'il n'y ait jamais

eu de décès attribuable à un empoisonnement par l'uranium chez les humains et que ceux-ci sont moins sensibles aux effets aigus ou chroniques de l'uranium que d'autres mammifères. Des données fiables sur la toxicité de l'uranium chez les humains ont été tirées des tests menés sur des personnes auxquelles ont été administrées de fortes doses d'uranium contre le diabète et d'intoxications aiguës accidentelles par inhalation. Bien que ces données soient rares pour établir des valeurs LD50 d'uranium par ingestion et par inhalation chez les humains, elles ont été suffisantes selon cette étude pour conclure que la LD50 par ingestion orale de composés solubles d'uranium dépasse plusieurs grammes d'uranium (5 g provisoirement) et au moins 1,0 g par inhalation. Pour les composés de l'uranium de moindre solubilité, les valeurs LD50 values sont significativement plus élevées (d).

Bibliographie

(a) Fiche radionucléide IRSN. Uranium naturel et environnement. 14/05/2001.

(b) Depleted uranium. Sources, Exposure and Health Effects. WHO/SDE/PHE/01.1, Department of Protection of the Human Environment. World Health Organization, Geneva, April 2001.

(c) Uranium : l'abondance au rendez-vous dans Les défis du CEA, Décembre-janvier 2002, N°94, 4.

(d) R. L. Kathren, R. K. Burklin (2008). Health Physics 94(2), 170-179.

(e) V. Renaud-Salis, F. Menetrier, A. Leudet, A. Flury-Herard (2002). Radioprotection 37, 4, 427-441.

Vanadium

Le vanadium a été découvert par un Suédois qui a tiré son nom de Vanadis, déesse suédoise de la beauté.

Cet élément est assez répandu dans les minerais de fer et de cuivre, la houille et les lignites, les pétroles. Il est assez largement utilisé dans l'industrie chimique comme catalyseur, dans l'industrie métallurgique (ferro-vanadium) pour la fabrication des peintures, comme siccatif, et comme colorant dans les céramiques. Certains insecticides et herbicides contiennent des sels de ce métal. En raison de tous ces emplois, sa présence a pu être signalée dans certaines eaux de surface à des teneurs de quelques dizaines à quelques centaines de microgrammes par litre (cf. § A-7.59). Lorsqu'il est retrouvé dans les eaux de boisson, la concentration ne dépasse pas habituellement 20 μg/L.

Le vanadium semble être un élément essentiel pour de nombreux organismes mais les quantités indispensables à l'homme ne sont pas connues actuellement. L'absorption gastro-intestinale est très faible et l'élimination se fait principalement par le rein.

La toxicité du vanadium s'accroît avec l'élévation de la valence, le vanadium pentavalent étant le plus toxique. Ce métal altère certains métabolismes (cholestérol, soufre, amines pressives, fer, calcium) et introduit des perturbations enzymatiques ainsi qu'un affaiblissement de la résistance immunobiologique de l'organisme et de la réactivité allergique. Il se comporte comme un poison du système nerveux central et déclenche des lésions rénales et hépatiques. Il n'a pas été signalé d'action cancérogène.

Bien qu'il n'existe pas de normes pour cet élément, on peut considérer que la teneur limite ne devrait pas être supérieure à 0,10 mg/L.

Vinyle

Voir Chlorure de vinyle.

Zinc

Le zinc se retrouve dans les roches généralement sous forme de sulfure. Le minerai le plus répandu est le sulfure de zinc (blende) qui contient également du fer, du cadmium, du manganèse et de l'arsenic. L'extraction du zinc se fait par grillage du minerai. En métallurgie, il entre dans de nombreux alliages ; il est aussi très employé pour la galvanisation des pièces métalliques, dans la fabrication de pigments pour la teinture, les vernis, comme raticide (phosphure de zinc) et dans la fabrication de produits phytosanitaires. Dans l'eau, la solubilité des chlorure et sulfate de zinc est importante, leur hydrolyse conduit à une diminution du *p*H. En présence d'un excès d'hydrogénocarbonate, la solubilité du zinc est contrôlée par la solubilité du carbonate qui est relativement soluble et de l'hydroxyde qui l'est peu. D'une façon générale, les eaux à *p*H faible ont des teneurs en zinc plus importantes. La présence de zinc dans les eaux de surface (cf. § A-7.60) doit être rattachée à des activités industrielles. Par contre, le zinc retrouvé dans les eaux de distribution à des teneurs pouvant dépasser 1 mg/L provient généralement des canalisations de laiton ou de fer galvanisé, attaquées par les eaux agressives ou riches en chlorures et sulfates. Il est à noter que le zinc sous forme d'orthophosphates est utilisé comme inhibiteur de corrosion pour les canalisations en plomb.

Il a été observé en Finlande que 35 % des eaux d'alimentation en contenaient plus de 8 mg/L ; pour certaines autres, les teneurs atteignaient 60 mg/L. Pour des teneurs supérieures à 5 mg/L, le zinc peut communiquer à l'eau une opalescence variable avec la dureté.

En présence des teneurs élevées en zinc, il faut se souvenir que ce métal peut contenir 1 % de cadmium ; il conviendra de rechercher ce toxique en particulier si l'eau a séjourné sur des surfaces galvanisées.

Le zinc est considéré comme un élément essentiel dans la nutrition humaine et animale. La quantité journalière recommandée serait de 15 mg pour un adulte et de 10 mg pour un enfant ; l'apport alimentaire quotidien permet habituellement de satisfaire à ce besoin. La quantité ingérée par l'eau est négligeable. L'absorption par l'organisme est faible et se réalise par une combinaison avec des métallo-enzymes dont l'action biologique implique la présence de zinc ; l'élimination est principalement intestinale. Le zinc aurait une action de protection vis-à-vis du cadmium et du plomb et jouerait le rôle d'antioxydant vis-à-vis des radicaux libres. D'un point de vue physiologique, et sans que la toxicité puisse entrer en jeu, il apparaît surtout que la quantité de zinc tolérable dans l'eau est rapidement limitée par le goût désagréable des sels de zinc (au-dessus de 5 à 10 mg/L).

Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (aspect, goût), l'OMS recommande comme valeur limite pour le zinc 3 mg/L. À titre indicatif, les anciennes directives du Conseil des communautés européennes indiquaient un niveau guide de 0,1 mg/L à la sortie des installations de pompage, et un niveau guide de 5 mg/L après 12 heures de stagnation dans la canalisation et au point de mise à la disposition du consommateur. L'ancienne réglementation française fixait comme valeur limite 5 mg/L. Les réglementations actuelles (européenne et française) n'intègrent pas ce paramètre.

Il y a lieu de noter que dans les eaux résiduaires de traitement de surface, le zinc est habituellement accompagné de plomb et de cadmium. Pour la vie aquatique, le zinc présente une certaine toxicité, fonction de la minéralisation de l'eau et de l'espèce considérée. La toxicité pour le poisson s'exerce à partir de quelques milligrammes par litre. Dans l'eau de mer, la reconcentration par divers organismes (en particulier les moules) a été bien établie. Pour l'usage agricole, le dépérissement des plantes peut intervenir à partir de 5 mg/L.

2.2 Substances prioritaires, substances dangereuses, substances pertinentes

La directive européenne 2000/60/CE du 23 octobre 2000 (DCE) établissant un cadre pour une politique communautaire de l'eau prévoit la réduction progressive des rejets, émissions et pertes de substances dites « prioritaires ». Elle prévoit également la suppression progressive, dans un délai de 20 ans, des rejets, émissions et pertes de substances dites « prioritaires et dangereuses ».

La décision du 16 décembre 2001 complète cette directive en établissant une liste de 33 substances ou familles de substances. Le tableau ci-dessous présente cette liste des 33 substances prioritaires (en caractère gras dans le tableau et numérotées de 1 à 33 dans la colonne de droite).

Afin d'aider à la mise en œuvre de ces objectifs, la circulaire de 4 février 2002 engage les régions à réaliser un état des lieux en mettant en place une Action Nationale de Recherche et de Réduction des Rejets de Substances Dangereuses dans l'Eau par les installations classées (3RSDE). Le décret 2005-378 du 20 avril 2005 publie une liste de 132 substances dangereuses sous forme de trois listes (tableau ci-dessous) :

– liste dite « Liste I » comprenant 18 substances (première partie du tableau ci-dessous),

– liste dite « Liste des 15 substances potentiellement en liste I, maintenant en Liste II » (deuxième partie du tableau ci-dessous),

– liste dite « Liste II » comprenant 99 substances (troisième partie du tableau ci-dessous).

Une circulaire du 7 mai 2007 modifiant la circulaire DCE 2005/12 du 28 juillet 2005 relative au « bon état » définit les normes de qualité environnementale provisoires (NQEp), notamment pour 41 substances impliquées

dans l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau ainsi que des substances pertinentes du programme national de réduction des substances dangereuses dans l'eau. La liste des 41 paramètres faisant l'objet de NQEp comprend les 33 substances prioritaires (numérotées de 1 à 33 dans la colonne de droite du tableau ci-dessous) complétées par 8 substances dangereuses (numérotées de 1 à 8 dans la colonne de droite du tableau ci-dessous).

Les autres substances pour lesquelles des NQEp ont été définies par la circulaire du 7 mai 2007 sont également présentées dans le tableau ci-dessous. Notons que cette circulaire ne propose pas de NQEp pour de nombreuses substances de la liste II des 132 substances.

À titre d'information, c'est entre 2003 et 2007 qu'ont été mis en place des comités de pilotage régionaux pour développer le programme 3RSDE. Le bilan dressé par l'INERIS début 2008 décrit l'ampleur de l'étude, en citant près de 3000 sites étudiés sur 21 régions, 23 secteurs d'activité, 3600 prélèvements, 22 laboratoires mobilisés.

Tableau annexé (sauf 4e partie du tableau) au décret du 20 avril 2005 relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses et (intégrées dans les 5 parties du tableau en pages suivantes).

Substances et familles de substances dangereuses pertinentes retenues par la circulaire du 7 mai 2007 DCE/23 définissant les « normes de qualité environnementale provisoires (NQEp) » pour les eaux superficielles

N° UE (1)	Nom	N° CAS	NQEp (concentration totale en µg/L) pour eaux de surface, eaux de transition et eaux marines (sauf précision)	Circulaire du 7 mai 2007
	Liste dite « Liste I » des 18 substances			
1	Aldrine	309-00-2	0,01	n° 2 des 8
12	**Cadmium et ses composés**	**7440-43-9**	**5[a] ou (BGF + X)[b]**	**n° 6 (des 33)**
13	Tétrachlorure de carbone	56-23-5	12	n° 6 des 8
23	**Trichlorométhane**	**67-66-3**	**12**	**n° 32 des 33**
46	DDT total	s.o.	0,025	n° 1 des 8
	Para-para-DDT	50-29-3	0,01	
59	**1-2 Dichloroéthane**	**107-06-2**	**10**	**n° 10 des 33**
71	Dieldrine	60-57-1	0,01	n° 3 des 8
77	Endrine	72-20-8	0,005	n° 4 des 8
83	**Hexachlorobenzène**	**118-74-1**	**0,03**	**n° 16 des 33**
84	**Hexachlorobutadiène**	**87-68-3**	**0,1**	**n° 17 des 33**
85	**Hexachlorocyclohexane**	**608-73-1**	**0,1[c]**	**n° 18 des 33**
92	**Mercure et ses composés**	**7439-97-6**	**1d**	**n° 21 des 33**
102	**Pentachlorophénol**	**87-86-5**	**2**	**n° 27 des 33**
111	Tétrachloroéthylène	127-18-4	10	n° 7 des 8
117	**Trichlorobenzènes**	**12002-48-1**	**0,4**	**n° 31 des 33**
118	**1,2,4 trichlorobenzène**	**129-82-1**	**Inclus dans tous trichlorobenzènes**	**n° 31 des 33**
121	Trichloroéthylène	79-01-6	10	n° 8 des 8
130	Isodrine	465-73-6	0,005	n° 5 des 8

[a] 5 (dissous) pour eaux de transition et eaux marines
[b] BGF : bruit de fond géochimique ; X : 0,08 à 0,25 (selon les eaux)
[c] 0,02 (total) pour eaux de transition et eaux marines
[d] 0,5 (dissous) pour eaux de transition et 0,3 (dissous) pour eaux marines

Liste dite « Liste des 15 substances potentiellement en liste I, maintenant en liste II				
5	Azinphos-éthyl	2642-71-9	s.o. (sans objet)	
6	Azinphos-méthyl	86-50-00	s.o.	
70	Dichlorvos	62-73-7	0,001	
76	**Endosulfan**	**115-29-7**	**0,005[a]**	**n° 14 des 33**
80	Fenitrothion	122-14-5	0,01	
81	Fenthion	55-38-9	s.o.	
89	Malathion	121-75-5	0,01	
100	Parathion (y compris méthyl)	56-38-2	s.o.	
106	**Simazine**	**122-34-9**	**1**	**n° 29 des 33**
115	Oxyde de tributylétain	56-35-9	0,019	
124	**Trifluraline**	**1582-09-8**	**0,03**	**n° 33 des 33**
125	Acétate de triphénylétain	900-95-8	0,01	
126	Chlorure de triphénylétain	639-58-7	0,01	
127	Hydroxyde de triphénylé-tain	76-87-9	0,01	
131	**Atrazine**	**1912-24-9**	**0,6**	**n° 3 des 33**

[a] 0,0005 (total) pour eaux de transition et eaux marines
s.o. : sans objet

Liste dite « Liste II des 99 substances »				
2	2-amino-4-chlorophénol	95-85-2	s.o.	
3	**Anthracène**	**120-12-7**	**0,1**	**n° 2 des 33**
4	Arsenic et composés minér.	s.o.	s.o.	
7	**Benzène**	**71-43-2**	**10[a]**	**n° 4 des 33**
8	Benzidine	92-87-5	s.o.	
9	Chlorure de benzyle	100-44-7	s.o.	
10	Chlorure de benzylidène	98-87-3	s.o.	
11	Biphényle	92-52-4	1,7	
14	Hydrate de chloral	302-17-0	s.o.	
15	Chlordane	57-74-9	s.o.	
16	Acide chloroacétique	79-11-8	0,58	
17	2-chloroaniline	95-51-2	0,64	
18	3-chloroaniline	108-42-9	1,3	
19	4-chloroaniline	106-47-8	1	
20	Mono-chlorobenzène	108-90-7	32	
21	1-chloro-2,4-dinitrobenzène	97-00-7	s.o.	
22	2-chloroéthanol	107-07-3	s.o.	
24	4-chloro-3-méthylphénol	59-50-7	9,2	
25	1-chloronaphtalène	90-13-1	s.o.	

26	Chloronaphtalènes	s.o.	s.o.	
27	4-chloronitroaniline	89-63-3	s.o.	
28	1-chloro-2-nitrobenzène	89-21-4	26	
29	1-chloro-3-nitrobenzène	88-73-3	3,2	
30	1-chloro-4-nitrobenzène	121-73-3	2	
31	4-chloro-2-nitrotoluène	89-59-8	s.o.	
32	Chloronitrotoluènes (autres)	s.o.	s.o.	
33	2-chlorophénol	95-57-8	6	
34	3-chlorophénol	108-43-0	4	
35	4-chlorophénol	106-48-9	4	
36	Chloropropène	126-99-8	32	
37	3-chloropropène	107-05-1	0,34	
38	2-chlorotoluène	95-49-8	14	
39	3-chlorotoluène	108-41-8	14	
40	4-chlorotoluène	106-43-4	32	
41	2-chloro-p-toluidine	615-65-6	s.o.	
42	Chlorotoluidines (autres)	s.o.	s.o.	
43	Coumaphos	56-72-4	s.o.	
44	2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine	108-77-0	s.o.	
45	2,4-D (dont sels et esters)	94-75-7	[b]27 (1,5)	
47	Demethon	298-03-3	s.o.	
48	1,2-dibromoéthane	106-93-4	s.o.	
49	Dichlorure de dibutylétain	683-18-1	0,17	
50	Oxyde de dibutylétain	818-08-6	0,9	
51	Autres sels de dibutylétain	s.o.	s.o.	
52	Dichloroanilines	95-76-1	0,2	
53	1,2-dichlorobenzène	95-50-1	10	
54	1,3-dichlorobenzène	541-73-1	10	
55	1,4-dichlorobenzène	106-46-7	20	
56	Dichlorobenzidines	s.o.	s.o.	
57	Dichloro-diisobutyléther	108-60-1	s.o.	
58	1,1-dichloroéthane	75-34-3	92	
60	1,1-dichloroéthylène	75-35-4	11,6	
61	1,2-dichloroéthylène	540-49-0	1100	
62	**Dichlorométhane**	**75-09-2**	**20**	**n° 11 des 33**
63	Dichloronitrobenzènes	s.o.	0,5	
64	2,4-dichlorophénol	120-83-2	10	
65	1,2-dichloropropane	78-87-5	s.o.	
66	1,3-dichloropropan-2-ol	96-23-1	s.o.	
67	1,3-dichloropropène	542-75-6	s.o.	

68	2,3-dichloropropène	78-88-6	s.o.	
69	Dichlorprop	120-36-5	1,6	
72	Diéthylamine	109-89-7	20	
73	Diméthoate	60-51-5	s.o.	
74	Diméthylamine	124-40-3	40	
75	Disulfoton	298-04-4	s.o.	
78	Épichlorhydrine	106-89-8	1,3	
79	Éthylbenzène	100-41-4	20	
82	Heptachlore (dont époxyde)	76-44-8	s.o.	
86	Hexachloroéthane	67-72-1	s.o.	
87	Isopropylbenzène	98-83-9	22	
88	Linuron	330-55-2	1	
90	2,4-MCPA	94-74-6	0,1	
91	Mecoprop	93-65-2	22	
93	Methamidophos	10265-92-6	s.o.	
94	Mevinphos	7786-34-7	s.o.	
95	Monolinuron	1746-81-2	1	
96	**Naphtalène**	**91-20-3**	**2,4[c]**	**n° 22 des 33**
97	Ométhoate	113-02-6	s.o.	
98	Oxy-demeton-méthyl	301-12-2	0,6	
99	**HAP (Benzo(a)pyrène)**	**50-32-8**	**0,05**	**n° 28 des 33**
	HAP (Benzo(b)fluorantène)	**205-99-2**	**0,03 (S)**	**n° 28 des 33**
	HAP (Acénaphtène)	83-32-9	0,7	
	HAP (Acénaphtylène)	208-96-8	0,4	
	HAP (Benzo(a)anthracène)	56-55-3	0,005	
	HAP (Chrysène)	218-01-9	0,006	
	HAP (Dibenzo(ah)anthracène)	53-70-3	0,00006	
	HAP (Fluorène)	86-73-7	0,3	
	HAP (Phénanthrène)	85-01-8	0,11	
	HAP (Pyrène)	129-00-0	0,024	
101	PCB (dont PCT)	s.o.	0,001	
103	Phoxime	14816-18-3	0,0005	
104	Propanil	709-98-8	s.o.	
105	Pyrazon	1698-60-8	s.o.	
107	2,4,5-T (dont sels et esters)	93-76-5	s.o.	
108	Tétrabutylétain	1461-25-2	s.o.	
109	1,2,4,5-tétrachlorobenzène	95-94-3	0,32	
110	1,1,2,2-tétrachloroéthane	79-34-5	140	
112	Toluène	108-88-3	74	

113	Triazophos	24017-47-8	s.o.	
114	Phosphate de tributyle	126-73-8	82	
116	Trichlorfon	24017-47-8	s.o.	
119	1,1,1-trichloroéthane	71-55-6	26	
120	1,1,2-trichloroéthane	79-00-5	300	
122	Trichlorophénols	95-95-4	s.o.	
	2,4,5-trichlorophénol	95-95-4	10	
	2,4,6-trichlorophénol	88-06-2	4,1	
123	1,1,2-trichloro-trifluoroéthane	76-13-1	s.o.	
128	Chlorure de vinyle	75-01-4	0,5	
129	Xylènes	1330-20-7	10	
132	Bentazone	25057-89-0	70	

[a] 8 (total) pour eaux de transition et eaux marines
[b] acide (ester éthylhexyl)
[c] 1,2 (total) pour eau de transition et eaux marines
s.o. : sans objet

Autres substances organiques (non annexées au décret du 20 avril 2005)			
Alachlore	**15972-60-8**	**0,3**	**n° 1 des 33**
Pentabromodiphényléther	**32534-81-9**	**0,0005 [a]**	**n° 5 des 33**
C_{10-13} chloroalcanes	**85535-84-8**	**0,4**	**n° 7 des 33**
Chlorfenviphos	**470-90-6**	**0,1**	**n° 8 des 33**
Chlorpyrofos	**2921-88-2**	**0,03**	**n° 9 des 33**
Di(2-éthylhexyl)phtalate	**117-81-7**	**1,3**	**n° 12 des 33**
Diuron	**330-54-1**	**0,2**	**n° 13 des 33**
Fluoranthène	**206-44-0**	**0,1**	**n° 15 des 33**
Isoproturon	**34123-59-6**	**0,3**	**n° 19 des 33**
Nonylphénols	**25154-52-3**	**0,3**	**n°/24 des 33**
Octylphénols	**1806-26-4**	**0,1 [b]**	**n°25 des 33**
Pentachlorobenzène	**608-93-5**	**0,007 [c]**	**n° 26 des 33**
HAP Benzo(k)fluoranthène	**207-08-9**	**0,03 (S)**	**n° 28 des 33**
HAP Benzo(g,h,i)perylène	**191-24-2**	**0,002 (S)**	**n° 28 des 33**
HAP Indéno(1,2,3cd)pyrène	**193-39-5**	**0,002 (S)**	**n° 28 des 33**
Composés du tributylétain	**688-73-3**	**0,0002**	**n° 30 des 33**

[a] 0,0002 (total) pour eaux de transition et eaux marines
[b] 0,01 (total) pour eaux de transition et eaux marines
[c] 0,0007 (total) pour eaux de transition et eaux marine

Liste dite « Liste II second tiret de la directive 76/464 » (métalloïdes et métaux, autres substances…)				
2	Zinc	7440-66-6	(BFG a + 7,8)	
2	Cuivre	7440-50-8	(BGF + 1,4)	
2	**Nickel et ses composés**	**7440-02-2**	**20 ou (BGF + 2,1)**	**n° 23 des 33**
2	Chrome	7440-47-3	(BGF + 3,4)	
2	**Plomb et ses composés**	**7439-92-1**	**7,2 ou (BGF + 0,4)**	**n° 20 des 33**
2	Sélénium	7782-49-2	(BGF + 1)	
2	Arsenic	7440-38-2	(BGF + 4,2)	
2	Antimoine	7440-36-0	(BGF + 113)	
2	Molybdène	7439-98-7	(BGF + 6,7)	
2	Titane	7440-32-6	(BGF + 2)	
2	Étain	7440-31-5	(BGF + 1,5)	
2	Baryum	7440-39-3	(BGF + 58)	
2	Beryllium	7440-41-7	(BGF + 0,04)	
2	Bore	7440-42-8	(BGF + 218)	
2	Uranium	7440-61-1	(BGF + 0,3)	
2	Vanadium	7440-62-2	(BGF + 0,8)	
2	Cobalt	7440-48-4	(BGF + 0,3)	
2	Thallium	7440-28-0	(BGF + 0,1)	
2	Tellurium	13494-80-9	s.o.	
2	Argent	7440-22-4	(BGF + 0,05)	
2	Phosphore total	s.o.	200	
2	Cyanure	57-12-5	0,57[b]	
2	Fluorure	16984-48-8	370	
2	Ammoniaque	7664-41-7	500[c]	
2	Nitrite	14797-65-0	300	

[a] BFG : Bruit de fond géochimique
[b] HCN + CN^-
[c] µg/L de NH_4^+
s.o. : sans objet

2.3 Limites de toxicité

Limites de toxicité dans l'eau de certains produits organiques

Composé	Dose maximale ne produisant aucun effet contraire observé (mg/kg/j)	Facteur d'incertitude (1)	DJA (mg/kg/j) (2)	Concentration dans l'eau ne produisant aucun effet contraire observé (µg/L) (3) H_1	H_2
HERBICIDES					
Chlorophénoxys					
– 2,4-D (acide dichloro-2,4-phénoxyacétique)	12,5	1 000	0,0125	87,5	4,4
– 2,4,5-T (acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique)	10,0	100	0,1	700	35,0
– TCDD (2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxyne)	10^{-5}	100	10^{-7}	$7 . 10^{-4}$	$3,5 . 10^{-5}$
– 2,4,5-TP (acide trichloro-2,4,5-phénoxypropionique)	0,75	1 000	0,00075	5,25	0,26
– 2,4 MCPA [acide (chloro-4-méthyl-2-phénoxy) acétique]	1,25	1 000	0,00125	8,75	0,44
Benzoïques					
– Amiben (acide-amino-2-dichloro-3,5-benzoïque)	250	1 000	0,25	1 750	87,5
– Dicamba (acide-méthoxy-2-dichloro-3,6-benzoïque)	1,25	1 000	0,00125	8,75	0,44
Amides					
– Alachlore [chloro-2-N-(diéthyl-2,6-phényl)-N-méthoxy-méthyl acétamide]	100	1 000	0,1	700	35,0
– Butachlore [2-chloro-2′,6′-diethyl-N-(butoxyméthyle)-acetanilide]	10	1 000	0,01	70,0	3,5
– Propachlore (N-isopropyl-N-phényl-chloro-2-acétamide)	100	1 000	0,1	700	35,0
– Propanil [N-(dichloro-3,4-phényl) propionamide]	20	1 000	0,02	140	7,0

Limites de toxicité dans l'eau de certains produits organiques (suite)

Triazines					
– Atrazine (chloro-2-éthylamino-4-isopropylamino-6 triazine-1,3,5)	21,5	1 000	0,0215	150	7,5
– Simazine [chloro-2-bis-(diéthylamino-4,6-triazine-1,3,5)]	215	1 000	0,215	1 505	75,25
– Propazine (2-chloro-4,6-diisopropylamino-s-triazine)	46,4	1 000	0,0464	325	16,0
Uracile					
– Bromacil [bromo-5-méthyl-6-(méthyl-1-propyl)-3,1-H, 3-H-pyrimidinedione-2,4]	12,5	1 000	0,0125	87,5	4,4
Dipyridiles					
– Paraquat (diméthyl-1,1-biuyridilium)	8,5	1 000	0,0085	59,5	2,98
Toluidines					
– Trifluraline [(dinitro-2,6-trifluorométhyl-4-phényl) dipropylamine] – Nitraline (méthylsulfonyl-4-dinitro-2,6-phényldipropylamine) – Benfluraline (N-Butyl-N-éthyldinitro-2,6-trifluorométhyl-4-aniline)	10	100	0,1	700,0	35,0
INSECTICIDES					
Hydrocarbures chlorés					
– Méthoxychlore [trichloro-1,1,1-bis-(méthoxy-4-phényl)-2,2-éthane]	10	100	0,1	700,0	35,0
– Toxaphène ou chlorocamphène	1,25	1 000	0,00125	8,75	0,44

Composé	Dose maximale ne produisant aucun effet contraire observé (mg/kg/j)	Facteur d'incertitude (1)	DJA (mg/kg/j) (2)	Concentration dans l'eau ne produisant aucun effet contraire observé (µg/L) (3) H_1	H_2
Organophosphates					
– Azinphosméthyl [dithiophosphate de 0,0-diméthyle et de S-oxo-4-dihydro-3,4-benzotriazine-1,2,3, yl-3] méthyle	0,125	10	0,0125	87,5	4,4
– Diazinon (0,0-diéthylthionophosphoryl-6-isopropyl-2-méthyl-4-pyrimidine)	0,02	10	0,002	14,0	0,7
– Phorate (0,0-diéthyldithiophosphoryl-2-phénylacétate d'éthyle) – Disulfoton (dithiophosphate d'0,0-diéthyle et d'éthyl-thioéthyle	0,01	100	0,0001	0,7	0,035
– Malathion [dithiophosphate de 0,0-diméthyle et de S-(diéthoxycarbonyl-1,2-éthyle)]	0,2	10	0,02	140	7,0
– Parathion [thiophosphate de 0,0-diéthyle et de 0-(nitro-4-phényle)]	0,043	10	0,0043	30	1,5
– Méthyl parathion [thiophosphate de 0,0-diméthyle et de 0-(nitro-4-phényle)]	0,043	10	0,0043	30	1,5

1392

Limites de toxicité dans l'eau de certains produits organiques (suite)

Carbamates					
– Aldicarbe [méthyl-2-méthylthio-2 0-(méthylcarbamoyl) propionaldoxime]	0,1	100	0,001	7	0,35
– Carbaryl (méthylcarbamate de naphtyle-1)	8,2	100	0,082	574	28,7
P-dichlorobenzène					
– PDB (paradichlorobenzène)	13,4	1 000	0,0134	93,8	4,7
FONGICIDES					
Dithiocarbamates					
– Zirame (diméthyldithiocarbamate zincique) et Ferbame (diméthyldithiocarbamate ferrique)	12,5	1 000	0,0125	87,5	4,4
– Manebe [N,N′-éthylène-bis-(dithiocarbamate manganeux)] et Zinèbe [polymère de N,N′-éthylène-bis-(dithiocarbamate) zincique]	5,0	1 000	0,005	35	1,75
– Thirame [disulfure de bis-(diméthylthiocarbamyle)]	5,0	1 000	0,005	35	1,75
Phtalimides					
– Captane [N-(trichlorométhylthio) cyclohexène-1,2-dicarboximide]	50	1 000	0,05	350	17,5
– Folpel (N-trichlorométhylthiophtalimide)	160	1 000	0,16	1 120	56,0
Autres fongicides					
– Hexachlorobenzène (HCB…)	1	1 000	0,001	7	0,35
AUTRES					
– Di-n-butyl phtalate	110	1 000	0,11	770	38,5
– Di (2-éthyl hexyle)	60	100	0,6	4 200	210

1393

Composé	Dose maximale ne produisant aucun effet contraire observé (mg/kg/j)	Facteur d'incertitude (1)	DJA (mg/kg/j) (2)	Concentration dans l'eau ne produisant aucun effet contraire observé (µg/L) (3) H_1	H_2
– Hexachlorophène	1	1 000	0,001	7	0,35
– Méthacrylate de méthyle	100	1 000	0,1	800	35,0
– Pentachlorophénol	3	1 000	0,003	21	1,05
– Styrène	133	1 000	0,133	931	46,5

(1) **Facteur d'incertitude pris égal à 10 :** Il s'agit de résultats expérimentaux valables à partir d'études sur l'ingestion prolongée par l'homme. Pas d'indication sur l'action cancérogène.
Facteur d'incertitude pris égal à 100 : Il s'agit de résultats expérimentaux non disponibles ou insuffisants sur les études d'ingestion par l'homme (par exemple, exposition aiguë seulement). Résultats valables d'études alimentaires à long terme sur les animaux testés, ou en l'absence d'études sur l'homme, études animales valables sur une ou plusieurs espèces. Pas d'indication sur l'action cancérogène.
Facteur d'incertitude pris égal à 1 000 : Aucune donnée sur la toxicité aiguë ou à long terme. Résultats insuffisants sur les animaux testés. Pas d'indication sur l'action cancérogène.
(2) Dose journalière acceptable (DJA).
(3) **Hypothèses :** Poids moyen d'un adulte : 70 kg - Quantité moyenne d'eau journellement absorbée : 2 L.
H_1 : 20 % de la DJA provient de l'eau, 80 % d'autres origines.
H_2 : 1 % de la DJA provient de l'eau, 99 % d'autres origines.

Calcul de la concentration dans l'eau ne produisant aucun effet contraire observé

À partir de la dose journalière acceptable, il est possible d'établir cette concentration sur la base d'un homme pesant 70 kg et consommant deux litres d'eau par jour.
La concentration sera différente suivant le pourcentage de la dose absorbée en provenance de l'eau.
Ainsi, si l'on considère la dose journalière acceptable (DJA) du 2,4-D qui est de 0,0125 mg/kg/j et que 20 % de cette DJA provient de l'eau, la concentration dans l'eau du 2,4-D ne produisant aucun effet contraire observé sera donnée par la formule suivante

$$0{,}0125 \times 70 \times \frac{1}{200} = 0{,}0875 \text{ mg/L} = 87{,}5 \text{ µg/L}.$$

Par contre, si l'on considère que seulement 1 % de la dose journalière acceptable du 2,4-D provient de l'eau, la concentration sera donnée par la formule suivante

$$0{,}0125 \times 70 \times \frac{20}{100 \times 2} = 0{,}0044 \text{ mg/L} = 4{,}4 \text{ µg/L}.$$

Extrait de *Drinking water ans health*, The National Research Council, 1977.

3 • INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE L'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

3.1 Risque de contamination microbiologique par les eaux

En 2004, l'OMS a estimé qu'à l'échelle mondiale plus de 1.1 milliard d'être humains n'ont pas accès à une source d'eau potable sûre, principalement dans les pays en voie de développement. 2.6 milliards d'êtres humains n'ont pas d'accès à des installations sanitaires. Ces manquements dans la gestion de l'eau entraînent chaque année un grand nombre de décès (1.8 Million d'individus par diarrhée, 1.3 million par la malaria, 1.5 million d'hépatite A, etc.). Ce risque de contamination de la ressource par manque d'installation sanitaire a été nommé le « péril fécal » par certains auteurs. Il est donc important de contrôler l'eau et son utilisation. En effet, certaines d'entre elles impliquent un contact direct entre l'homme et l'eau, notamment l'alimentation, aussi bien par la boisson et la préparation des aliments, que par le lavage de produits alimentaires et du matériel de préparation. Il en va de même pour l'hygiène corporelle, prise dans un sens large et comprenant aussi bien la toilette que la baignade et la pratique des sports nautiques.

Dans d'autres implications, le contact entre l'homme et l'eau est indirect ; c'est le cas pour l'eau utilisée dans les conchylicultures ou l'arrosage et l'irrigation. La contamination des fruits de mer, des végétaux ou même des animaux terrestres consommés ultérieurement par l'homme peut dans certaines circonstances avoir une grande influence sur sa santé.

La qualité de l'eau dans ces divers types d'utilisation est le plus souvent soumise à des exigences réglementaires.

L'interprétation d'un résultat doit se faire en tenant compte de deux éléments :

– La conformité à la norme : il y a une progression continue dans la signification des résultats analytiques permettant de juger de l'acceptabilité ou non d'un risque, et non pas une valeur fixe en deçà de laquelle tout est bon et au-delà de laquelle tout est mauvais. Or une norme fixe une limite qui (en tenant compte de divers facteurs techniques variant d'un paramètre à l'autre) est toujours située très bas, dans une échelle d'évaluation des risques, donc très éloignée d'un signal d'alarme de risque inacceptable.

– L'évaluation du risque : dans cette évaluation, qui devrait déterminer la rapidité et l'ampleur de l'action à entreprendre, de nombreux facteurs doivent être pris en compte, comme il le sera envisagé dans les paragraphes suivants.

L'analyse microbiologique dans les eaux permet ainsi d'apprécier le risque dû à des micro-organismes pathogènes (bactéries, champignons, protozoaires, virus), susceptibles d'être trouvés dans les eaux utilisées par l'homme, et de ce fait, de provoquer des maladies (*voir* tableau page suivante).

La plupart des micro-organismes à l'origine des grandes épidémies historiques d'origine hydrique et de celles qui subsistent encore dans les pays développés, ont pour habitat normal les intestins de l'homme ou de certains animaux à sang chaud. De ce fait, il a été prouvé que dans une eau soumise à une pollution par des matières fécales, il existe un risque qu'elle contienne des micro-organismes pathogènes de cette origine.

Il faut tout de même garder à l'esprit que des épidémies très importantes ne sont absolument pas liée à la présence d'une contamination fécale, par exemple les graves épidémies de légionellose ne pourraient en aucun cas être prédites par le suivi de ces indicateurs. Il convient donc penser à la différence entre indicateurs et pathogènes proprement dits.

Actuellement, dans les pays de climat tempéré et de protection sanitaire satisfaisante, les affections les plus fréquentes d'origine hydrique provoquent des gastro-entérites surtout. Dans les pays chauds, le rôle des parasites, protozoaires ou vers en particulier, est considérable : la transmission hydrique non seulement du choléra mais des dysenteries amibiennes et des bilharzioses constitue un problème sanitaire non encore résolu et le péril fécal reste bien présent. L'appréciation du risque se pose en termes légèrement différents dans le domaine de l'infection et dans le domaine de l'intoxication chimique. Les relations doses-effets sont plus imprécises étant donné les variations du pouvoir pathogène dans une même espèce, d'une souche à l'autre, mais aussi dans les variations de sensibilité des individus infectés en fonction de l'âge, de l'état de santé, et surtout de l'état immunitaire.

Le risque toxique dans le domaine de l'eau est dans la presque totalité des cas un risque chronique. Au contraire, le risque microbiologique est un risque aigu correspondant à une pollution essentiellement intermittente, du moins dans les pays dont l'état sanitaire général de la population est satisfaisant. Il ne s'agit donc plus de rechercher la présence et la concentration de l'agent du risque – comme c'est le cas le plus fréquent dans le risque chimique – mais de prévoir dans quelle mesure une telle présence pourrait survenir.

Il faut en outre, à la suite de cette prévision, évaluer l'acceptabilité du risque, en tenant compte des modalités d'utilisation de l'eau.

L'utilisation d'indicateurs explique la place relativement faible donnée à la recherche des micro-organismes pathogènes eux-mêmes dans les diverses réglementations nationales ou internationales.

La législation n'est basée que sur le suivi des indicateurs bactériens du risque fécal. Les autres types de pathogènes ne sont recherchés qu'en cas de suspicion ou dans le cadre d'un sur-contrôle préventif. Il est à noter que

certains pays n'ont pas la même approche et suivent dans leur contrôle le risque parasitaire (Royaume-Uni et États-Unis suivent les *Cryptospridium* et les *Giardia* par exemple).

Il en est de même pour l'évaluation du risque microbiologique subsistant après un traitement de décontamination ; la présence des pathogènes dans la ressource étant inconstante, ce n'est pas l'absence de pathogène dans l'eau traitée qui témoignera de l'efficacité de ce traitement. Il convient d'utiliser des signes d'efficacité indépendants de la présence de ces pathogènes mais qui permettent d'affirmer que, si ceux-ci survenaient dans l'eau avant son traitement, celui-ci réussirait à les éliminer.

Les corrélations entre indicateurs et pathogènes ne sont pas toujours parfaites. Par exemple, la résistance aux traitements de désinfection des bactéries, des virus et des parasites n'est pas homogène et en cas d'épidémie l'absence de l'un n'est pas significatif de l'absence des autres.

Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau

Classification	Micro-organismes	Affections en relation avec l'eau
B	*Aeromonas spp*	GE et syndromes cholériformes (I)
B	*Campylobacter jejuni/C. coli*	GE (I)
B	*Clostridium perfringens*	Indicateur de contamination fécale peu spécifique GE (I)
B	*Enterococcus spp*	Aucune en relation avec l'eau. Indicateur de contamination fécale.
B	*Escherichia coli,* entéropathogènes, entérotoxiques, entéroinvasifs	GE et syndromes cholériformes (I). Indicateur de contamination fécale.
B	*Légionella pneumophila*	Pneumopathie, fièvre (in-halation d'aérosols).
B	*Leptospira spp*	Leptospirose ictérohémorragique (C)
B	*Pseudomonas aeruginosa*	Infections cutanées (C), suppuratives ou éruptives, surinfections, pneumopathies

Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau *(suite)*

Classification	Micro-organismes	Affections en relation avec l'eau
B	*Salmonella* typhiques et para-typhiques	Fièvres typhoïdes (I)
B	*Salmonella typhimurium, S. enteritidis* (« cosmopolites ») 1 600 sérotypes	GE (I), infections systémiques
B	*Shigella dysenteriae, S. flexneri, S. boydii, S. sonnei*	GE et dysenterie (I)
B	*Staphylococcus aureus*	Infections cutanées suppuratives (C), indicateur de contamination de proximité
B	*Vibrio cholerae, Vibrio spp*	GE et cholera (I), infections cutanées
B	*Yersinia enterolitica*	GE (I)
V	*Adenovirus*	GE (I), pharyngite, conjonctivite (C, piscines)
V	Entérovirus (3 Polio, 23 Coxsackie A, 6 Coxsackie B, 32 ECHO, Entero 68 à 71)	Poliomyélite (I), affections neurologiques, respiratoires, cutanées, musculaires et cardiaques (I)
V	Virus de la fièvre jaune, virus des dengues	Fièvres hémorragiques (pi-qûre de moustiques *Aedes* vivant à proximité des eaux).
V	Hépatite A virus (HAV), Hépatite E virus (HEV)	Hépatites (I)
V	Papilloma virus	Verrues (C, en piscine)
V	Rotavirus, Coronavirus, Calicivirus et Norwalk, Astrovirus, Parvovirus	GE (I)
P	Amibes : *Naegleria, Entamoeba, Acanthamoeba, Balantidium*	Amibiase (I Kystes) Kératite (C, eau de lavage lentilles cornéennes)
P	*Cryptosporidium parvum*	GE (I)
P	*Giardia lamblia, G. intestinalis*	GE giardiase (I Kystes)

Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau *(suite)*

Classification	Micro-organismes	Affections en relation avec l'eau
P	*Plasmodium*	Paludisme (affection de proximité, piqûre d'anophèles vivant dans les marais)
P	*Trypanosoma*	Maladie du sommeil (piqûre de glossines vivant à proximité des marais)
H	Anguillules	Anguillulose (C, baignades en piscine, ou I)
H	*Ankylostoma duodenale, A. brasiliensis*	Ankylostomiase (C, larve capable de traverser la peau, terrains humides, rizières)
H	*Ascaris lumbricoides*	Ascaridiose (I, larves dans l'eau ou la terre humide)
H	Bothriocéphale	Bothriocéphalose (affection de proximité, ingestion de chair de brochet)
H	*Fasciola hepatica* ou douve	Distomatose (affection de proximité, ingestion de cresson d'eau)
H	Filaires	Filariose, Dracunculose (I)
H	*Onchocerca volvulus*	Onchocercose (piqûre de simulies vivant près des eaux courantes)
H	*Schistosoma*	Bilharziose (C voie transcutanée)
H	*Taenia saginata, Taenia solium*	Teniasis (I) irrigation par eaux usées
F	*Candida albicans*	Candidose (C, piscines)
F	Dermatophytes : *Trichophy-ton, Microsporium, Trichosporon*	Mycoses cutanées (C, eau de mer, sable)

B : Bactéries.
V : Virus.
P : Protozoaires.
H : Helminthes.
F : Fungi.
spp : diverses espèces

I : Contamination par ingestion d'eau.
C : Contamination par contact avec l'eau contaminée.
GE : Gastro-entérites (se traduisant par douleurs abdominales, diarrhées, vomissements, fièvre à des degrés divers).

Pour toutes ces raisons, les analyses microbiologiques de l'eau sont essentiellement des analyses d'indicateurs : indicateurs de pollution dans une eau naturelle, indicateurs d'efficacité de traitement dans une eau traitée.

L'interprétation d'une analyse d'eau résulte de la confrontation de deux éléments :

– La nature du micro-organisme recherché.

– La modalité d'utilisation de l'eau analysée. Toutes les utilisations peuvent avoir une implication sanitaire : l'eau destinée à la consommation humaine, l'eau de loisir (piscines, baignades en eau vive), les eaux thermales, les eaux usées, l'eau de culture conchylicole, l'eau destinée à l'arrosage de végétaux utilisés pour l'alimentation de l'homme.

– L'origine de l'eau, c'est-à-dire eau traitée ou non traitée. Dans le cas d'une eau traitée, il n'y a pas toujours de rapport entre le comptage de bactéries indicatrices d'origine fécale et la probabilité de présence de pathogènes non bactériens (parasites ou de virus). Cette absence de corrélation est principalement due à une sensibilité différente des micro-organismes vis-à-vis du désinfectant. Dans le cas d'une eau non traitée, il y a une bonne corrélation entre la teneur en bactéries indicatrice et en agents pathogènes, même si différents paramètres peuvent faire fluctuer cette relation. On peut en dire que la mise en évidence de bactéries fécales dans une eau traitée est, à concentration égale, plus alarmante que dans le cas d'une eau non traitée.

Le rapport de l'InVS sur *Détection et investigation des épidémies d'infection liées à l'ingestion d'eau de distribution* indique que « l'idée de baser le déclenchement d'une investigation exploratoire sur un seuil de concentration des indicateurs bactériologiques relève donc plus du pragmatisme que de considérations scientifiques. »

3.2 Interprétation en fonction de la nature du micro-organisme recherché

3.2.1 Micro-organismes indicateurs de pollution

Micro-organismes indicateurs spécifiques de pollution fécale

Ils sont principalement basés sur *E. Coli* (au sens de la norme ISO 9308-1, c'est-à-dire que certaines bactéries sont faussement classées comme E. Coli, comme certaines *Klebisella Oxytoca* par exemple) et sur les *Entérocoques*. Les autres indicateurs (flore totale, coliformes totaux, spore de bactérie sulfito-réductrice) déterminés par le code de la santé publique, accompagnent ce suivi ; l'*Escherichia coli* est de beaucoup le plus important des coliformes fécaux. *E. Coli* est le plus important des indicateurs fécaux, sa présence dans les eaux ne peut provenir que quasi uniquement des matières fécales des mammifères (à titre d'indication environ 10^{10} CFU/g de fèces chez les humains et des concentrations proches de 10^{10} chez d'autres animaux comme le porc, les bovidés, etc.).

Ce sont donc des témoins sensibles indicateurs de matières fécales et donc potentiellement de pathogènes, du fait de leur grande quantité dans les fèces.

Des indications valables pour l'évaluation du risque ne pourront être obtenues que par la répétition des examens. Deux cas types peuvent se présenter :

– Dans le premier cas, il s'agit d'une eau généralement de bonne qualité : la recherche de bactéries fécales est habituellement négative. Si cependant survient un résultat positif, celui-ci doit être interprété : la conduite à tenir dépendra de l'évaluation du risque en fonction de l'utilisation de l'eau, de l'importance de la contamination et des chances de voir se répéter une telle pollution. L'apparition de bactéries fécales dans ce cas constitue un signal d'alarme, devant entraîner une enquête.

– Dans le deuxième cas, il s'agit d'une eau constamment contaminée par des germes de pollution fécale, telles que le sont presque toutes les eaux de surface. Il ne s'agit plus dès lors d'un signal d'alarme, mais d'une évaluation de l'importance de la pollution fécale. La plupart de ces contaminations permanentes proviennent des rejets d'eaux usées urbaines dont la concentration en coliformes est relativement constante et de l'ordre de 10^6 à 10^7 par 100 mL. La concentration en coliformes au point d'utilisation permet donc d'apprécier l'importance d'une contamination par ce type d'effluent.

Dans l'un et l'autre de ces cas, il conviendra de tenir compte, pour l'interprétation de la concentration en germes fécaux, des circonstances météorologiques : les eaux de nappes peu profondes sont plus souvent contaminées après de fortes précipitations ou après les fontes des neiges qui submergent la protection des terrains filtrants ; les eaux de baignade (mer, rivière) sont plus riches en germes fécaux au début des saisons orageuses qui effectuent un véritable lessivage des rives, et déclenche des rejets d'orages des réseaux.

Micro-organismes indicateurs, non réellement spécifiques de pollution fécale

La réglementation française et les directives du Conseil des communautés européennes font intervenir comme paramètre de qualité un certain nombre de bactéries comme les coliformes et les spores de bactérie sulfito-réductrice. Ces bactéries, si elles se trouvent normalement dans les matières fécales, peuvent également vivre et se multiplier dans les milieux naturels.

La prise en compte de ces indicateurs autres que *E. Coli* et *entérocoques* peut être discutée.

– Les coliformes totaux : Il s'agit d'un indicateur historique et donc la recherche est associée avec celle des *E. coli* dans la norme (premières étapes de la norme 9308-1). La difficulté d'interprétation liée à cet indicateur est que si effectivement un certain nombre de bactéries mise en évidence sont indicatrices d'une pollution fécale, certaines sont d'origine environnementales. C'est pourquoi il faut toujours faire attention aux prélèvements positifs pour les coliformes, ce n'est pas toujours signe d'une contamination fécale. Néanmoins certaines souches identifiées peuvent présenter un risque de santé publique. La diversité des souches couverte par cette norme (*Citrobacter, Enterobacter…*) et leur sensibilité différentes aux traitements de chloration pourrait permettre de nous informer d'une contamination d'un réseau. Une augmentation du nombre d'identification des coliformes montrerait alors un probable problème.

– Les bactéries aérobies revivifiables à 22 ou 36 °C ne sont pas d'origine fécale. Elles fournissent quelques informations ; comme la prolifération de la flore dans un réseau alimenté par une eau mal traitée, c'est-à-dire riche en matière organique. Des variations de concentration de plus d'un facteur 10 sont interprétées comme un changement de qualité dans le code de la santé publique. Ces interprétations si elles n'évoquent pas de risque épidémique, peuvent là aussi être indicatrices d'une certaine dérive du traitement. La stabilité est un bon signe de protection. Il est parfois d'usage d'attribuer une plus grande signification aux variation de la flore à 22 °C qu'a 37 °C, les bactéries d'origine environnementale se développant principalement à des températures basses.

– Les spores de bactéries sulfito-réductrices sont le témoin de l'efficacité du traitement et apportent des informations complémentaires intéressantes. En partie d'origine fécale elles subsistent lors de la désinfection qui fait disparaître les bactéries non sporulées. Certains auteurs ont indiqué que la différence des concentrations en entrée et en sortie de traitement indique les performances de la clarification, notamment vis-à-vis des risques associées (essentiellement parasitaire mais aussi viral) d'où son inscription dans le code de la santé publique. Son interprétation n'est toutefois pas facile, en tout cas moins aisée que pour d'*E. coli* et d'entérocoques. Dans la pratique, on n'accorde pas toujours assez d'importance à ce paramètre, l'analyse du contexte étant nécessaire. Le rapport de l'InVS résume bien cette approche : « L'usage de ce paramètre comme signal d'une menace épidémique potentielle est à apprécier localement au regard du bruit de fond en termes de contamination microbiologique des eaux et de la vulnérabilité des ressources. »

3.2.2 Autres micro-organismes pathogènes

Les micro-organismes pathogènes d'origine fécale pourront être recherchés pour constater la matérialisation d'un danger vis-à-vis duquel la présence de bactéries fécales joue le rôle de signal d'alarme. Cet examen est souvent pratiqué en liaison avec les examens biologiques effectués chez des malades atteints d'une maladie infectieuse dont on soupçonne une origine hydrique. En fait, seules les *Salmonella* et les *Shigella* sont des bactéries fréquemment recherchées, en dehors de cas d'épidémies bien établis. Ces dernières années cependant, une certaine importance a été attribuée aux *Yersinia,* aux *Campylobacter*, aux virus et aux parasites (*Cryptosporidium* et *Giarda* principalement, voir Marchal). Les risques sanitaires provenant de micro-organismes d'origine non fécale sont surtout importants au cours des baignades et pratiques thermales. Ils ne peuvent être évalués que par la recherche des pathogènes eux-mêmes : *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Legionella pneumophila* sont les plus fréquemment recherchés. Les amibes pathogènes (*Naegleria fowleri*) ont fait l'objet d'études récentes, et leur recherche peut être effectuée dans des laboratoires d'hydrologie spécialisés.

3.2.3 Virus

Pour les virus aucun critère microbiologique n'est fixé (sinon l'absence « les eaux destinées à la consommation humaine ne doivent pas contenir

un nombre ou une concentration de microorganismes de parasites ou de toutes autres substances constituant un danger potentiel pour la santé des personnes » du code de la santé publique). À l'instar des parasites, les virus ne se multiplient pas dans l'eau, leur concentration potentielle est donc faible, il faut donc concentrer de grands volumes d'eau afin de les mettre en évidence. Cette faible concentration n'est pas un critère pour définir leur dangerosité, la dose infectante théorique étant faible.

« Le bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale » rapport de l'AFSSA de 2007 précise bien l'efficacité des différents traitements vis-à-vis des virus. Pour estimer l'efficacité des traitements, la quantification des bactériophages MS2 (de taille et de forme comparables à un certain nombre de virus pathogène) semble constituer une approche prometteuse, aussi bien pour les techniques de filtrations (taille comparable) d'adsorption que pour les traitements de désinfection UV (ou ils sont considérés comme plus résistant que les virus humains).

3.3 Interprétation en fonction de l'utilisation de l'eau

3.3.1 Eau destinée à la consommation humaine

Conformité aux réglementations et recommandations

Les directives du Conseil des communautés européennes et la réglementation française excluent impérativement les présences d'E. coli fécaux et d'entérocoques dans 100 mL. La même exigence porte sur les coliformes « totaux ».

En pratique, la plupart des DDASS tolèrent ces événements et considèrent qu'une UD est non conforme quand plus de 5 % des échantillons prélevés au cours de l'année sont positifs.

Dans le cadre des eaux distribuées par canalisation, en plus des exigences, des « niveaux guides » sont proposés par les directives : les concentrations correspondantes sont de 10 germes à 37 °C, et 100 à 22 °C par mL.

La réglementation pose le principe que l'eau destinée à la consommation humaine ne doit pas contenir de micro-organismes pathogènes. Mais ceux-ci, ne seront recherchés, qu'en tant que de besoin, sans qu'une périodicité fixe soit imposée.

L'amélioration des techniques d'isolement a augmenté la fréquence de ces constatations. Elle a permis également de mettre en évidence l'absence de corrélation statistique entre la présence de bactéries fécales et d'autres pathogènes.

Les prescriptions du code de la santé publique entraînent que :

D'une part, les eaux ne peuvent pas être distribuées sans traitement de désinfection. D'autre part, lorsqu'un traitement de la ressource est nécessaire, la seule adjonction de désinfectant serait rarement suffisante car souvent, elle ne permettrait pas d'obtenir une concentration en *Clostridium*

sulfito-réducteurs ne dépassant pas 1 spore par 100 mL. Il semble que dans de nombreux cas, une filtration (sur sable, par exemple) devrait être instituée préalablement à la désinfection, ce qui présenterait un intérêt pour l'élimination des parasites. Dès lors, l'efficacité de cette filtration pourrait être vérifiée par les dénombrements bactériens ou la recherche des spores de *Clostridium*.

Il convient de faire une distinction entre la constatation d'une non-conformité aux normes et l'évaluation d'un risque considéré comme inacceptable. Actuellement, un certain nombre d'eaux peuvent ne pas être conformes aux normes et ne pas être réellement dangereuses.

Même quand le danger est faible, tout dépassement des normes doit entraîner une intervention dont l'urgence et l'importance seront fonction de l'évaluation réelle du risque par un hygiéniste qualifié et ceci en connaissance de la dépense qui en découlera.

Interprétation des normes

Cette interprétation pour les divers paramètres connaît des modalités différentes selon le lieu du prélèvement dans le cycle du captage et de la distribution.

Au stade du captage. Analyse de type RP ou RS. Les exigences réglementaires portant en particulier sur des témoins de pollution fécale constituent des signaux d'alarme extrêmement précoces.

Quand une eau n'est pas apte à être distribuée comme eau potable, on doit y remédier par un traitement approprié. Cependant, une limite de qualité est imposée aux eaux brutes, au-delà de laquelle une procédure spéciale est nécessaire pour obtenir l'autorisation de les transformer en eau destinée à la consommation humaine. Dans le domaine de la microbiologie, ces valeurs guides concernent les paramètres spécifiques de la pollution fécale : coliformes, *E. Coli* et entérocoques dont les concentrations ne doivent pas excéder respectivement 50 000, 20 000 et 10 000 colonies par 100 ml. Il est certain que plus une pollution de cette nature est intense, plus une défaillance dans le traitement pourrait avoir de graves conséquences, et plus grand est le risque de rencontrer dans cette eau brute un micro-organisme pathogène dont on ne sait pas exactement quelle sera sa réponse au traitement. En présence d'un dépassement de normes de cette nature, l'attention doit être attirée sur le danger qu'il y aurait à vouloir y remédier par une unique décontamination microbienne chimique. Une telle opération permettrait sans doute l'abaissement des concentrations de ces paramètres, en particulier des coliformes, dans des limites acceptables, mais on ne sait si tous les micro-organismes pathogènes réagiront dans les mêmes conditions. Une telle confusion entre indicateur de pollution et indicateur d'efficacité de traitement serait préjudiciable à la santé publique.

Les autres indicateurs tels que la flore totale et surtout les spores de bactéries sulfito réductrices sont alors très importants pour estimer l'abattement de la filière de traitement.

Après le traitement. Le risque est essentielllement fonction de la qualité de l'eau brute et de la filière. En effet, lors de l'utilisation d'une eau de

bonne qualité, il est difficile d'appréhender les disfonctionnements, ces derniers ne se traduisant pas par une augmentation des indicateurs. Toute défaillance devient inacceptable, même si elle se traduit par des signes mineurs, comme une simple élévation anormale des dénombrements bactériens.

Au stade du robinet du consommateur. Lorsque l'eau correcte après son captage ou son traitement, n'est plus conforme au stade de la mise à disposition du consommateur, il faut rechercher la cause de cette situation. L'accroissement de la population bactérienne peut provenir soit du développement de celle existant à l'entrée du réseau, soit de l'intrusion d'une flore extérieure, que ce soit par des interconnexions entre canalisations, par le mauvais entretien et isolement des réservoirs, ou par le développement de biofilm.

Dans le premier cas, ne devraient être retrouvés que des accroissements de germes dits « totaux », à la rigueur de coliformes, ou de *Clostridium*, pour lesquels une tolérance est admise. Mais toute présence de *E. Coli* ou d'entérocoques est symptomatique d'une pollution externe des réseaux, ou bien d'une défaillance au moment du captage ou du traitement : leur présence est donc de toute façon problématique.

L'attention doit être attirée sur les pollutions qui peuvent survenir dans les immeubles du fait des appareils de « traitement » ou de leurs recharges et entretiens dans des conditions hygiéniquement peu satisfaisantes. Le premier signe, et le plus fréquent, est généralement un accroissement notable des « flores totales ».

Cas des eaux embouteillées. L'eau embouteillée est soumise, selon les directives du Conseil des communautés européennes, à des exigences très sévères de qualité, concernant notamment les dénombrements bactériens. Ces exigences doivent être contrôlées dans les 12 heures qui suivent l'embouteillage. Au moment de la consommation, ces germes se sont souvent multipliés, surtout dans le cas d'emballages en plastique, dans de très grandes proportions. Ceci d'ailleurs ne présente aucun risque particulier vis-à-vis de la santé du consommateur, puisqu'il s'agit de la flore initiale de ces eaux, *a priori* non pathogène. Des exigences portent également, dans le cas des eaux embouteillées sur les dénombrements de la flore totale : 20 germes par mL au maximum, par culture à 36 °C, 100 germes par mL, par culture à 22 °C, l'analyse étant effectuée dans les 12 heures suivant le conditionnement.

Cas des captages familiaux. Dans les habitations isolées, il est souvent nécessaire de faire appel à des eaux de puits ou de source, dont la qualité n'est pas égale à celle des eaux de distribution publique. Les prélèvements devront être faits par le propriétaire et usager dans les conditions les plus défavorables : pluies abondantes, fonte des neiges, et, dans le cas de localités à habitat saisonnier, dans les périodes de densité importante de la population ; c'est particulièrement la pollution par des bactéries témoins de contamination fécale qui sera recherchée. En cas de pollution, l'évaluation du risque sera faite en fonction d'une enquête sur les origines de celle-là : présence de fermes, de troupeaux dans le voisinage, qualité du terrain filtrant, etc. Les notions précédemment développées à ce sujet sont à nouveau valables dans une telle situation.

3.3.2 Eaux de baignades aménagées en eau vive : mer, rivière

Les risques sont liés à l'ingestion de l'eau, ou au contact de celle-ci avec la peau ou les muqueuses. L'ingestion d'eau au cours d'un bain ramène au problème de l'eau d'alimentation. Mais la quantité d'eau ingérée est beaucoup moins importante et de ce fait, le risque d'absorber une dose minimale infectante d'un pathogène est beaucoup plus faible. En outre, le risque de multiplication d'un pathogène dans un aliment préparé avec une eau le contenant en faible concentration, n'existe pas dans la baignade où l'eau est bue directement. On peut donc tolérer une certaine contamination fécale dans une baignade en eau vive, contamination d'ailleurs inévitable dans la plupart des cas.

Différentes études épidémiologiques ont montré la relation entre gastro-entérites et exposition aux eaux contaminées lors de baignades (voir Kay 2003, Wiedenmann 2004 et InVS 2000). Ces travaux ont amené à la révision de la norme baignade européenne qui a été modifiée en février 2006, la directive 2006/7/CE est maintenant applicable. D'autres types d'infections sont possibles par voie cutanéo-muqueuse.

Ces infections par voie cutanéo-muqueuse sont de deux types. Pour le premier, il peut s'agir d'affections internes comme celles résultant de la pénétration à travers les téguments de leptospires pathogènes. Ce sont des maladies graves, atteignant chaque année en France quelques dizaines de personnes. Pour le second, il s'agit le plus souvent d'infections de la peau ou des muqueuses dues à des germes pyogènes, tels que les staphylocoques pathogènes, les *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi qu'à des levures et des champignons dermatophytes.

Les cyanobactéries doivent également être spécifiquement surveillées, la production de toxine par ces bactéries photosynthétique est possible et potentiellement dangereuse. Différents arrêtés précisent en France les conditions de leur surveillance. Ainsi, le ministère chargé de la santé, par circulaire en date du 4 juin 2003 (puis circulaire du 28 juillet 2004 et circulaire du 5 juillet 2005), en s'appuyant sur les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé et du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France a défini des modalités de surveillance et de gestion des eaux affectées par des développements de cyanobactéries.

La directive 2006/7/CE utilise les quatre dernières années du suivi pour définir des niveaux de qualité de l'eau (insuffisante, suffisante, bonne ou excellente). Deux paramètres doivent être analysés, les entérocoques et les E. Coli. Le tableau I et II indiquent les limites pour les eaux douces ou côtières. Le décret du 18 septembre 2008 transpose cette directive dans le Code de la Santé publique.

Pour les eaux intérieures

	A	B	C	D	E
	Paramètre	Excellente qualité	Bonne qualité	Qualité suffi-sante	Méthodes de référence pour l'analyse
1	Entérocoques intestinaux (UFC/100 ml)	200 (*)	400 (*)	330 (**)	ISO 7899-1 ou ISO 7899-2
2	Escherichia coli (UFC/ 100 ml)	500 (*)	1 000 (*)	900 (**)	ISO 9308-3 ou ISO 9308-1

(*) Évaluation au 95e percentile.
(**) Évaluation au 90e percentile.

Pour les eaux côtières et les eaux de transition

	A	B	C	D	E
	Paramètre	Excellente qualité	Bonne qualité	Qualité suffi-sante	Méthodes de référence pour l'analyse
1	Entérocoques intestinaux (UFC/100 ml)	100 (*)	200 (*)	185 (**)	ISO 7899-1 ou ISO 7899-2
2	Escherichia coli (UFC/ 100 ml)	250 (*)	500 (*)	500 (**)	ISO 9308-3 ou ISO 9308-1

(*) Évaluation au 95e percentile.
(**) Évaluation au 90e percentile.

Ces normes ne tiennent pas compte de la présence de pathogènes à proprement parler. Il faut être conscient que, si pour obtenir des normes satisfaisantes dans un lieu de baignade pollué par un déversement d'eau usée, on s'efforce d'améliorer la qualité du rejet par une décontamination bactérienne chimique, il n'y a aucune certitude que la disparition des coliformes corresponde à une disparition d'autres germes et notamment de ceux qui peuvent provoquer des affections autres que les gastro-entérites. Un détournement du rejet de façon à ce qu'il n'atteigne plus la plage, ou seulement après une très forte dilution, apparaît comme la solution la plus satisfaisante.

3.3.3 Eaux de piscine

À la différence des baignades, il est possible de traiter l'eau brute alimentant les piscines. Il est dès lors possible d'éliminer les micro-organismes pathogènes par filtration et désinfection comme dans les eaux d'alimentation. Cependant on doit tenir compte du mode principal de contamination qui est la contamination par les baigneurs eux-mêmes. Les risques principaux résultent en pratique des bactéries pyogènes (*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*), des mycobactéries atypiques, des virus. Ces micro-organismes, que l'on trouve non seulement dans l'eau, mais aussi sur les plages de la piscine, provoquent d'autant plus facilement des affections tégumentaires que les muqueuses des baigneurs sont souvent très irritées par ces désinfectants. Les exigences de qualité sont formulées dans le décret du 7 avril 1981 (modifié par décret en 1991, 1999, 2001 et 2008). Elles portent sur des indicateurs d'efficacité de traitement permettant de vérifier à la fois l'efficacité du traitement et celle de l'action désinfectante résiduelle dans le bassin même. Le tableau suivant indique les paramètres du suivi de la qualité des eaux.

Normes baignade

Paramètres	Valeurs Guides	Valeurs Impératives	Fréquences d'échantillonnage minimale
Coliformes totaux/100 mL	500	10000	Bimensuelle
Coliformes thermotolérants/100 mL	100	2000	Bimensuelle
Streptocoques fécaux/100 mL*	100	–	Bimensuelle
Salmonelles/1 L	–	0	Si présence possible
Enterovirus PFU/10 L	–	0	En cas de dégradation de la qualité

** Le tableau du décret du 18/09/2008 fait référence aux « streptocoques ». Il faut lire « entérocoques »*

La recherche de virus n'est mentionnée dans le contrôle analytique des eaux de piscines qu'en cas d'une possible détermination de la qualité des eaux.

Il est rappelé que du fait de la loi 78.733 du 12 juillet 1978 relative aux piscines et aux baignades aménagées, toute piscine « autre que celles réservées à l'usage personnel d'une famille » est soumise à cette réglementation.

3.3.4 Eaux thermales

L'eau provenant des sources thermales et destinée à la crénothérapie (pour les eaux minérales embouteillées, *voir* G.3.2.1) doit subir des contrô-

les réguliers, prévus par l'arrêté du 16 mai 1989 modifiant l'arrêté du 14 octobre 1937 et la circulaire du 20 juin 1992, destinés à s'assurer de la constance de la composition physico-chimique (minéralisation) et de l'absence de tout mélange ou traitement de désinfection, ainsi que de toute contamination microbiologique. L'eau minérale est contrôlée à l'émergence, en sortie du réseau et suivant les différents usages : douches, jets, piscine, baignoires, aérosols, etc., selon une fréquence fonction de la fréquentation (nombres de curistes par an). Les normes de qualité microbiologique varient suivant le point d'usage. Elles tiennent compte de la réceptivité particulière des curistes qui sont des sujets présentant souvent un terrain favorable aux infections, en particulier par germes opportunistes. Aussi, une attention toute particulière est portée à la recherche de *Legionella pneumophila* (valeur guide $< 10^3$ UFC/L) et de *Pseudomonas aeruginosa* (0 ou $<$ 100 UFC/250 mL selon les soins). Une réflexion et des études sur le terrain sont menées concernant l'autorisation de désinfection des seules piscines collectives, en pratique toujours très contaminées.

3.3.5 Eaux destinées à la conchyliculture

Des eaux usées contenant des micro-organismes pathogènes peuvent souiller des parcs de conchyliculture. Or les mollusques filtrent de très grands volumes d'eau et accumulent ainsi dans leur chair des virus et des bactéries : les consommateurs peuvent de ce fait ingérer des doses minimales infectantes de ces pathogènes. La consommation de mollusques ayant subi une telle pollution est une cause très fréquente d'épidémies de typhoïdes ou d'hépatites infectieuses.

La directive n° 79.923 CEE du 30 octobre 1979 formule des exigences concernant une concentration en coliformes fécaux, recherchés non pas dans l'eau du parc mais dans la chair des coquillages et le liquide intervalvaire, prenant ainsi en compte le phénomène essentiel de la concentration par l'animal.

Les coliformes fécaux sont bien entendu utilisés comme indicateurs de pollution fécale et non comme indicateurs d'efficacité de traitement. Aussi, en présence d'une eau fécalement polluée provoquant un dépassement de la norme imposée par la directive du Conseil des communautés européennes de 300 coliformes fécaux dans 100 mL, vouloir obtenir sa conformité aux normes en désinfectant chimiquement l'eau usée ne supprime pas le danger déjà signalé dans le cas des baignades. La fausse sécurité ainsi obtenue est d'autant plus redoutable que le risque est infiniment plus grand. Le seul moyen préventif efficace d'assurer la protection des mollusques est le détournement des rejets hors de la zone de conchyliculture. Tout rejet dans cette zone présente un risque inacceptable du fait des défaillances possibles de ce traitement et de l'ignorance de son efficacité réelle vis-à-vis de nombreux agents pathogènes, notamment celui de l'hépatite A.

3.3.6 Eaux destinées à des utilisations agricoles/ réutilisation des eaux usées

L'origine de l'eau utilisée en agriculture, au titre de l'arrosage ou de l'irrigation, est très variable : il peut s'agir d'une eau de bonne qualité microbiologique, d'une eau de surface plus ou moins polluée, voire d'une eau usée.

Le risque est lié à l'importance de la contamination là-encore appréciée par la concentration en bactéries indicatrices de contamination fécale, à la destination de cette eau (cultures, prairies, pelouses) et au mode d'épandage de ces eaux (aspersion ou gravitation par ruissellement, submersion, infiltration en rigoles, arrosage localisé en tuyaux perforés).

Dans les milieux où la pression hydrique est forte, par manque d'eau et/ou par manque d'eau de qualité, le recyclage de l'eau usée épurée est une solution de plus en plus souvent proposée. On peut d'ailleurs présumer que la réutilisation deviendra une solution durable et régulièrement appliquée.

La réutilisation des eaux usées urbaines épurées présente une solution prometteuse à la pression croissante sur les ressources en eau de l'Europe. Pourtant, jusqu'ici, aucun règlement européen spécifique n'a été publié sur ce sujet. Dans d'autres états hors Europe, des classifications plus poussées permettent de définir des qualités d'eau en fonction de la réutilisation qui en sera faite (ex : Title 22, Water Recycling Criteria, 2006, Californie). Les législations européenne et française, quant à elles, restent basées sur les recommandations de l'OMS de 1989 fixant les limites de qualité des eaux réutilisées pour irriguer les cultures uniquement.

Exemples de réglementations hors Europe

Organisation/Pays	Recommandation/Réglementation
Title 22 (californie, 2000)	2,2 ou 2,3 coliformes totaux/100 ml selon culture + filière de traitement agréée
OMS (1989) (niveau A)	1000 coliformes thermotolérants/100 ml + 1 œuf d'helminthe/l
US EPA (1992)	< 1 ou 200 coliformes thermotolérants/100 ml selon culture
Afrique du Sud	1 ou 1000 coliformes thermotolérants/100 ml selon culture + filières imposées
Arabie Saoudite	2,2 coliformes totaux/100 ml (cultures à accès non restreint)
France (CSHPF, 1991) (niveau A)	1000 coliformes thermotolérants/100 ml + 1 œuf d'helminthe/l + contraintes techniques particulières
Japon	< 1^{E}. Coli/100 ml + résiduel de chlore total > 0,4 mg/l
Koweït	100 ou 10000 coliformes totaux/100 ml selon culture + effluent oxydé, filtré et désinfecté
Israël	2,2 ou 250 coliformes thermotolérants/100 ml selon culture
Tunisie	< 1 nématode intestinal/l

En France, L'article 24 du Décret 94-469 du 3 juin 94 (version consolidée le 9 avril 2000 par le Décret 2000-318) fonde le statut réglementaire de la réutilisation des eaux usées urbaines :

– « Les eaux usées peuvent, après épuration, être utilisées à des fins agronomiques ou agricoles, par arrosage ou par irrigation, sous réserve que leurs caractéristiques et leurs modalités d'emploi soient compatibles avec les exigences de protection de la santé publique et de l'environnement. »

– « Les conditions d'épuration et les modalités d'irrigation ou d'arrosage requises, ainsi que les programmes de surveillance à mettre en œuvre,

sont définis, après avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France et de la mission interministérielle de l'eau, par un arrêté du ministre chargé de la santé, du ministre chargé de l'environnement et du ministre chargé de l'agriculture. »

Dans l'attente de cet arrêté, il convient de se référer aux recommandations du CSHPF (Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France) concernant l'utilisation, après épuration, des eaux résiduaires pour l'irrigation des cultures et des espaces verts (Circulaire n° 51 du 22 juillet 1991 et du 3 août 1992 du ministère chargé de la Santé) et basé sur les recommandations de l'OMS de 1989.

Le classement des eaux selon la législation française dépend donc des critères donnés par l'OMS et le CSHPF. Cette classification est fonction :

– des paramètres microbiologiques et parasitologiques,
– des contraintes de distance,
– des contraintes d'usage,
– des paramètres physico-chimiques,
– du traitement d'épuration subit.

Elle aboutit à trois types d'eau : A, B, C (de la meilleure à la moins bonne qualité). Seules les eaux usées urbaines sont considérées par ces textes, les eaux industrielles présentant des caractéristiques chimiques tout à fait différentes.

Réglementation de l'OMS

Catégories	Conditions de réutilisation	Groupe Exposé	Œuf d'helminthe (NPP/ml)	Coliformes thermotolérants	Coliforme Fécaux (NPP/100 ml)
A	Irrigation de cultures pouvant être consommées crues, terrain de sport, parc public	Travailleurs Consommateurs Public	≤ 1	≤ 10000/litre	≤ 1000
B	Irrigation de cultures céréalières, industrielles, de fourrages, d'arbres fruitier et de pâturages	Travailleurs	≤ 1	Pas de contrainte	Pas de recommandation standard
C	Irrigation localisée de la catégorie B, sans exposition possible avec les travailleurs ou le public	–	Non applicable	Pas de contrainte	Non applicable

■ Projet d'arrêté de septembre 2000

L'objet de cet arrêté, en cours de rédaction, est de fixer les prescriptions sanitaires et techniques correspondantes applicables aux installations utilisant, après épuration, des eaux usées à des fins d'arrosage et d'irriga-

tion. Des modifications ont été apportées par rapport à la réglementation internationale :

– Les contraintes d'usage ne sont pas modifiées.
– Les contraintes de distances sont légèrement modifiées.
– Des précisions sont apportées quant aux modes d'irrigation.
– Des valeurs seuil sont établies.

Valeurs limites de qualité

	Niveau de Qualité		
Paramètres	**A**	**B**	**C°**
MES (mg/l) (si lagunage naturel)	150 (*)	150 (*)	150 (*)
DCO (*) (mg/l)		125	125
E. Coli (/l)	10 000	10 000	-
Salmonelles (/l)	Absence	-	-
Œufs de ténia (/l)	Absence	-	-

(*) dans le cas du lagunage, la DCO est réalisée sur effluent filtré.
° : ce niveau ne permet pas l'aspersion.

Bibliographie

R. Buttiaux (1951). *L'analyse bactériologique des eaux de consommation*. Éd. Médicales, Flammarion, Paris.

A.J. Drapeau, S. Jankovic (1977). *Manuel de microbiologie de l'Environnement.* OMS, Genève.

J. Vial en collaboration avec J. Brisou, L. Coin, C. Danglot, J. M. Folliguet, Ph. Vilagines (12-14 octobre 1977). Signification des indicateurs et des niveaux de pollution relatifs aux micro-organismes. *L'eau, la recherche et l'environnement : Journées de Montpellier*. Collection *Recherche et Environnement* n° **8**, p. 207-244.

OMS (1979). Les virus humains dans l'eau, les eaux usées et le sol. Rapport technique **639**.

R. Brémond, C. Perrodon (1979). *Paramètres de la qualité des eaux.* Ministère de l'Environnement Éd.

V.J. Cabelli (1980). *Health effects criteria for marine recreational waters*. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinatti, Ohio 45268.

J.C. Block (13 sept. 1983). *Virologie des eaux. Acquis et perspectives.* Symp. Europ. Soc. against virus diseases. Clermont-Ferrand,

H. Champsaur, E. Cuestiaux, J. Prévot *et al.* (1984). Rotavirus carriage in the first two years. *J. of Infections Diseases*. **149**, p. 667-682.

J. Maurin (1984). *Virologie médicale*. Éd. Flammarion.

J. L. Melnick (1984). *Enteric viruses in water*. Monograph in virology, Karger (Basle), 15.

V.C. Rao, J. L. Melnick (1986). *Environmental Virology.* Van Nostrand Reinhold (U. K.).

H. Champsaur (1987). *Gastro-entérites virales.* E.M.C.

M. Stupfel (1987). *Environnement et Médecine.* Privat Éd. (Toulouse).

H. Leclerc, D.A.A. Mossel (1989). *Microbiologie : le tube digestif, l'eau et les aliments.* Éd. Doin.

Degrémont (1989). *Mémento technique de l'eau.* Tec. et Doc. Lavoisier.

R. Desjardin (1990). *Le traitement des eaux.* École Polytechnique Éd. (Montréal).

L. Schwartzbrodt (1991). *Virologie des milieux hydriques.* Éd. Lavoisier, Tec. Doc.

Arrêté du 29 novembre 1991 fixant les normes d'hygiène et de sécurité applicables aux piscines et aux baignades aménagées.

X… Hygiène Alimentaire. Eaux destinées à la consommation humaine. Brochure n° 1629, Direction des Journaux Officiels, avril 1991.

J. Bontoux (1993). *Introduction à l'étude des eaux douces.* Éd. Lavoisier Tec. et Doc.

H. Champsaur (1993). Colloque Environnement Littoral (Nice). *J. Franç. d'Hydrol.* **24**, p. 9-108.

D. Gaujous (1993). *La pollution des milieux aquatiques.* Éd. Lavoisier Tec. et Doc.

C. Hasley, H. Leclerc (1993). *Microbiologie des eaux d'alimentation.* Éd. Lavoisier Tec. et Doc.

J. L. Potelon, K. Zysman (1993). *Guide des analyses d'eau potable.* Éd. « La lettre du cadre territorial ».

OMS, 1994. Directives de qualité pour l'eau de boisson.

World Health organization "emerging Issues in water and infetious disease", 1-22 2003.

World Health organization "water, sanitation and hygiene links to Health", novembre 2004.

Nature "water under pressure", 20 march 2008, 260-285.

World Health organization and international water association Water Safety plan, 2009.

C. Mons, A. Dumètre, S. Gosselin, C. Galliot, L. Moulin (janvier 2009). Monitoring of Cryptosporidium and Giardia river contamination in Paris area. Water Res. 43(1):211-7.

4 • ASPECTS RÉGLEMENTAIRES

Le Droit de l'eau à des racines très anciennes. Mais si depuis l'Antiquité l'accès à l'eau et à ses usages a toujours fait l'objet d'une réglementation, les textes relatifs à la qualité des eaux sont beaucoup plus récents.

C'est à Londres que l'hypothèse de la transmission du choléra par l'eau (contaminée par les matières fécales) a été émise pour la première fois par SNOW lors de la sévère épidémie de 1852-1854.

Au cours de la première moitié du XXe siècle, à l'exception de la loi de 1902 sur l'hygiène publique (instauration d'un périmètre de protection de la source avec la possibilité d'y interdire les épandages d'excréments humains), c'est par voie de circulaires (l'instruction générale du 12 juillet 1924 porte sur l'établissement de projets d'adduction et les paramètres physiques, chimiques et microbiologiques : colibaciles et recherche des germes pathogènes dans 100 ml. La circulaire du 12 août 1929 décrit les moyens de correction pour obtenir une eau alimentaire de qualité satisfaisante et la circulaire du 10 novembre 1954 jette les bases modernes de la qualité des eaux alimentaires en introduisant pour la première fois des concentrations limite à ne pas dépasser sur quelques éléments toxiques) que les prescriptions françaises relatives à la qualité des eaux destinées à l'alimentation humaines ont été diffusées.

Les premiers textes réglementaires sont apparus avec le décret du 1er août et l'arrêté du 10 août 1961. Concernant la qualité des eaux distribuées, l'arrêté reprend pour l'essentiel les dispositions de la circulaire de 1954 (les eaux ne doivent pas présenter d'indice de contamination fécale ni de pollutions organiques et des teneurs limites sont fixés pour quelques métaux et toxiques : plomb 300 µg/L, arsenic 50 µg/L et cyanure inférieure au seuil de détection par exemple).

Avec le développement depuis les années cinquante des réseaux d'adduction en eau potable, dans les villes d'abord, puis dans les campagnes ensuite, les rejets d'eaux usées qui se sont généralisées ont largement contribué à la dégradation de la qualité des eaux de surface. C'est dans ce contexte que le législateur français a réagi en votant en 1964 la première Loi sur l'eau instituant le principe « pollueur-payeur » ainsi qu'une gestion de l'eau par grand bassin confiée à des agences spécialisées.

La communauté Européenne s'est très tôt intéressée à la question de l'eau en publiant dès juin 1975 une Directive (Directive 75/440/CEE toujours en vigueur) relative à la qualité des eaux de surface utilisées pour la production d'eau destinée à l'alimentation humaine. Cette Directive classe les eaux brutes en quatre catégories A1 (bonne qualité) A2 (qualité moyenne) A3 (qualité dégradée) et hors classe pour les eaux dont la qualité très insuffisante ne permet pas d'envisager la production d'eau alimentaire. Pour chaque catégorie un traitement adapté est associé : T1 (filtration-

désinfection) pour A1, T2 (filière classique) pour A2 et T3 (filière classique complétée par un traitement d'affinage) pour A3.

Depuis ce texte de nombreuses Directives communautaires relatives aux eaux de baignades (8 décembre 1975 puis 15 février 2006), aux eaux conchylicoles (Directive 79/923/CEE du conseil, du 30 octobre 1979, relative à la qualité requise des eaux conchylicoles), aux eaux résiduaires urbaines (Directive 91/271/CEE), aux eaux de surface et aux eaux souterraines (Directive 80/68/CEE) ont été publiées.

4.1 Eaux naturelles

Un des textes les plus importants publiés par la communauté européenne, dans le domaine de l'eau, est sans aucun doute la directive cadre (DCE) adoptée par le Parlement Européen et le Conseil le 23 octobre 2000 (Directive 2000/60/CE, JO L327 du 23.10.2006). Elle forme une architecture et un cadre juridique et réglementaire pour une politique communautaire harmonisée dans le domaine de l'eau. Cette composante moderne de la législation européenne établit des objectifs clairs mais elle accorde une flexibilité de mise en œuvre aux États membre.

Cette directive dont l'objectif essentiel est l'atteinte d'ici 2015 du « bon état » écologique, biologique et chimique pour tous les milieux aquatiques naturels s'appuie sur quatre grands principes :

– Renforcer l'approche par bassin versant des territoires, (la directive reconduit au plan européen les principes de gestion par grand bassin hydrographique, de gestion équilibrée et de planification définis par les lois françaises de 1964 et de 1992).

– Planifier, programmer et donner aux pays membre une obligation de résultats.

– Impliquer le grand public par la voie de la consultation, pour assurer une participation active de tous les acteurs de l'eau (sur l'identification des difficultés et des questions essentielles à résoudre, sur le programme de travail et sur le projet de plan de gestion de l'eau dans le district).

Avec la publication obligatoire des données techniques et économiques sur les usages de l'eau, la directive veut ainsi renforcer la transparence de la politique de l'eau.

– Procéder à une analyse économique. La directive demande que les modalités de tarification de l'eau incluent les coûts environnementaux aux coûts des services d'eau, compte tenu de l'application du principe pollueur-payeur.

Un état des lieux de tous les milieux aquatiques : cours d'eau, lacs, eaux souterraines, eaux côtières ou d'estuaires a été imposé. Il a été publié pour chaque pays membre à la fin de 2004. À cette échéance la directive a également demandé d'établir un registre des zones protégées (captage pour l'alimentation en eau potable, zones de baignades…).

Depuis la fin de 2006 les états membres ont l'obligation de faire fonctionner des réseaux de surveillance de l'état des eaux. Ce dispositif doit être complété par une typologie des eaux de surface et par un étalonnage des

méthodes d'évaluations de l'état des eaux. Ces dispositions ont pour but de permettre la comparaison de la qualité des milieux aquatiques entre les états membres.

Pour 2009, un « plan de gestion » doit définir les objectifs à atteindre en 2015 et le programme des mesures et des actions nécessaires.

Une certaine souplesse est cependant prévue pour l'atteinte « du bon état » de toutes les masses d'eau et des reports d'échéance ou des objectifs moins stricts restent possibles sous réserve d'être justifiés et soumis à la consultation du public.

Il est rapidement apparu que l'application de la directive cadre posait des problèmes complexes, dont certains, ne pouvaient trouver une solution qu'au travers d'études ou de programmes de recherche finalisée. La DCE par exemple définit des objectifs pour les masses d'eau. Cependant, ceux-ci doivent être aménagés en fonction de leur faisabilité économique. C'est pourquoi chaque action de restauration devra être évaluée pour éviter des coûts disproportionnés et pour faire des choix optimisés.

4.1.1 Évaluation de la qualité des eaux de rivières : le SEQ-EAU

Le SEQ-EAU remplace en France depuis le 1er janvier 2000 le système d'évaluation utilisé jusqu'alors, la grille dite « Multi-usages » dérivée de la grille proposée par le Ministère de l'Environnement en 1971. Le nouveau système est plus rationnel et plus complet que le précédent : il prend en compte les produits phytosanitaires ainsi que divers micropolluants organiques et il inclut de nouvelles techniques d'évaluation de la qualité des eaux naturelles (bryophytes aquatiques ou mousses végétales pour évaluer le degré contamination par les métaux par exemple).

Les évaluations qui peuvent être faites sur un ou plusieurs (voire des séries de) prélèvements sont réalisées au moyen de plus de 150 paramètres regroupés en indicateurs appelés altérations (1. Matières organiques et oxydables, 2. Matières azotés hors nitrate, 3. Nitrates, 4. Matières phosphorés etc.). Ces altérations comprennent des paramètres de même nature (alachlore, diuron, glyphosate, fipronil par exemple au titre de l'altération pesticides) ou ayant des effets comparable sur le milieu aquatique ou encore des incidences analogues sur les usages.

En identifiant les altérations qui compromettent les équilibres biologiques ou les usages, le SEQ-EAU permet un diagnostic précis de la qualité de l'eau et c'est un outil utile pour définir les actions susceptibles de concourir aux améliorations nécessaires pour satisfaire les différents usages.

La qualité de l'eau est décrite, pour chacune des altérations, à l'aide :

– de 5 classes de qualité allant du bleu (la meilleure) au rouge (pour la plus mauvaise),

– d'un indice de qualité variant en continu de 0 à 100 (le meilleur) à l'intérieur d'une même classe.

L'aptitude de l'eau à la biologie et aux usages est évaluée, pour chaque altération, à l'aide de 5 classes d'aptitude au maximum allant du bleu (très bonne) au rouge (inaptitude). La classe d'aptitude est déterminée au moyen de grilles de seuils fixés pour chacun des paramètres en fonction ;

– de la réglementation en vigueur pour ce qui concerne la production alimentaire, les eaux de loisirs, etc.,

– des recommandations internationales (OMS par exemple),

– d'avis d'experts.

La définition des seuils d'aptitude à la biologie a été confiée à un comité scientifique.

La qualité globale d'une eau peut être définie en combinant les informations obtenues à l'aide de ces différents outils. Sous réserve que la dimension écologique soit suffisamment développée dans ces grilles on disposerait alors d'un moyen adapté pour apprécier le bon état écologique visé par la DCE.

4.1.2 Les eaux de baignades

La qualité des eaux de baignade à très tôt retenu l'attention du législateur européen puisque la première « directive baignade » (Directive 76/160/CEE, JO L31 du 5.2.1976) a été adoptée le 8 décembre 1975. Elle portait essentiellement sur les risques microbiologiques liés à la baignade et elle fixait un cadre pour définir (à partir des résultats des analyses réalisées sur les prélèvements d'une zone de baignade au cours d'une saison) des classes de qualité d'eau.

La nouvelle directive élaborée conformément à la décision n° 1600/2002/CE du parlement européen et du conseil du 22 juillet 2002 (établissant le 6e programme d'action communautaire pour l'environnement) a été publiée au J.O. de l'union européenne le 4 mars 2006 (Directive 2006/7/CE du 15 février 2006, JO L64 du 4.3.2006, concernant la qualité des eaux de baignade). Les États membre avaient un délai de 2 ans pour effectuer sa mise en œuvre.

Cette directive introduit un certain nombre de dispositions nouvelles pour le classement et la gestion des eaux de baignade. L'évaluation de la qualité des eaux est faite à partir des dénombrements (UFC/100 ml) d'entérocoques intestinaux et des Escherichia coli, au 95e percentile de la référence pour les eaux de bonne et d'excellente qualité et au 90e percentile de la référence pour les eaux de qualité suffisante (l'annexe I définit les grilles de qualité pour les eaux intérieures et les grilles pour les eaux côtières et les eaux de transition).

Pour chaque site la directive prévoit l'établissement d'un profil de risque ou de vulnérabilité. Il doit comporter :

– une description des caractéristiques physiques, géographiques et hydrologiques,

– une identification et une évaluation des sources de pollution susceptibles d'affecter les eaux de baignades,

– une évaluation du potentiel de prolifération de cyanobactéries, de macroalgues et/ou de phytoplancton.

Les profils des eaux de baignade doivent être terminés pour chaque site, le 24 mars 2011 au plus tard et le premier classement fondé sur le nouveau dispositif devra être fait au plus tard à la fin de la saison balnéaire 2015.

Ce classement devra ensuite être revu régulièrement et d'autant plus fréquemment que la qualité de l'eau concernée est moindre (au moins tous les 2 ans pour les eaux de qualité insuffisante).

Les eaux de baignade devront avoir atteint une qualité suffisante en 2015 (Entérocoques intestinaux 185 UFC/ml, Escherichia coli. 500 UFC/ml).

Ces nouvelles dispositions ont été intégrées dans la réglementation française par les textes suivant, auxquels le lecteur pourra se reporter.

Ministère de la Santé, de la Jeunesse, des Sports et de la Vie Associative

– Décret n° 2008-990 du 18 septembre 2008 relatif à la gestion de la qualité des eaux de baignade et des piscines.

– Arrêté du 22 septembre 2008 relatif à la fréquence d'échantillonnage et aux modalités d'évaluation de la qualité et de classement des eaux de baignade.

– Arrêté du 23 septembre 2008 relatif aux règles de traitement des échantillons et aux méthodes de référence pour les analyses d'eau dans le cadre de la surveillance de la qualité des eaux de baignade.

4.1.3 Les eaux souterraines

Les eaux souterraines constituent le plus important réservoir d'eau douce de la planète (97 % du total à l'exception des glaciers et des calottes glacières) et 75 % des habitants de l'UE dépendent de cette ressource pour leur alimentation en eau. Ces chiffres montrent l'importance qu'il convient d'accorder à la préservation de leur qualité. Mais ces eaux doivent aussi être protégées pour leur valeur environnementale car elles jouent on rôle essentiel dans le cycle hydrologique en maintenant les zones humides et les débits des cours d'eau, en particulier en période d'étiage (le débit des rivières peut alors être assuré à plus de 90 % par les eaux souterraines). En conséquence, la détérioration des eaux souterraines peut affecter directement les eaux de surface correspondantes et les écosystèmes terrestres.

La première directive relative aux eaux souterraines (Directive 80/68/CEE du 26 janvier 1980) avait une portée restreinte, se limitant à la réduction des émissions provenant de l'industrie et des effluents urbains.

Pour la première fois avec la DCE, les eaux souterraines sont incorporées dans un système intégré de gestion de l'eau. Ainsi, la directive cadre de 2000 inclus les eaux souterraines dans ses plans de gestion des districts hydrographiques et elle prévoit l'adoption d'une série de mesures visant à garantir, d'ici 2015, le bon état chimique des eaux souterraines. Elle exige des états membres de l'UE qu'ils surveillent et évaluent la qualité des eaux souterraines sur la base de critères communs, qu'ils identifient et au besoin, qu'ils inversent les tendances de pollution observées. L'établissement de critères de bon état chimique a été l'un des éléments du mandat de l'article 17 de la DCE qui devait être fixé dans la nouvelle directive sur les eaux souterraines.

En termes de quantité, les objectifs de la DCE sont clairs, ils visent à établir un équilibre entre les prélèvements et la recharge des nappes souterraines, mais les critères d'état chimique sont plus complexes et ils n'étaient pas totalement résolus au moment de l'adoption de la directive cadre. Le Parlement européen et le Conseil ont en conséquence demandé que la Commission

élabore une proposition de directive « fille » clarifiant les critères de bon état chimique ainsi que des spécifications relatives à l'identification et à l'inversion des tendances de pollution. Cette nouvelle directive a été adoptée en décembre 2006 (Directive 2006/118/CE, JO L 372 du 12.12.2006).

Les lois édictées pour protéger les eaux souterraines contre la pollution et la détérioration font partie d'un cadre réglementaire plus large construit depuis le début des années 1990. Le concept de protection des eaux souterraines traité par différents textes législatifs est désormais totalement intégré dans les mesures de base de la Directive-Cadre sur l'Eau. Elles cherchent toutes à prévenir ou à limiter le rejet de polluants dans les eaux souterraines :

– La directive nitrates (Directive 91/676/CEE, JO L 375 du 31.12.1991) vise à réduire et à prévenir l'enrichissement des eaux souterraines en nitrate. Elle exige des états membres qu'ils désignent les zones vulnérables dans tous les secteurs de leurs territoires qui drainent des eaux susceptibles d'être affectées par la pollution par les nitrates.

– La directive eaux résiduaires urbaines (Directive 91/271/CEE, JO L 135 du 30.05.1991) vise à protéger l'environnement des effets indésirables des rejets d'eaux usées urbaines et des rejets d'eaux résiduaires de certains secteurs industriels.

– La directive concernant les produits phytopharmaceutiques (Directive 91/414/CEE L230 du 19.08.1991) et la directive sur les produits biocides (Directives 98/8/CE, JO L 123 du 24.04.1998) réglementent l'autorisation, la mise sur le marché, l'utilisation et le contrôle au sein de l'Union Européenne de produits phytosanitaires et biocides commerciaux (insecticides, herbicides, fongicides, désinfectants…).

– La directive relative à la prévention et à la réduction intégrées de la pollution (IPPC) (Directive 96/61/CEE, JO du 10.10.1996) expose des mesures conçues pour prévenir ou réduire la pollution de l'air, de l'eau, ou des sols. Cette directive s'applique à des activités industrielles ayant un fort potentiel polluant comme la transformation des métaux, le secteur énergétique, l'industrie chimique, les installations de traitement des déchets, l'industrie agroalimentaire et les activités non industrielles comme l'élevage.

– La directive sur la mise en décharge des déchets (Directive 99/31/CE, JO du 16.07.1999) vise à prévenir ou à réduire les effets négatifs des déchets sur l'environnement, y compris sur les eaux souterraines. Comme la précédente, elle fixe des dispositions de délivrance de permis reposant sur de nombreuses conditions incluant des études d'évaluation d'impact. Les sites doivent être conçus de manière à ce que les eaux et les lixiviats de décharges contaminés puissent être collectés et traités, afin de prévenir la pollution des sols et des eaux de surface et souterraines.

La directive eaux souterraines exige que :

– Des valeurs seuils pour ces eaux (normes de qualité) soient établies par les états depuis la fin 2008.

– Des études de tendances de pollution soient menées à l'aide des données existantes et de données de surveillance rendues obligatoire par la

DCE (en s'appuyant sur les données de « l'état initial » obtenues en 2007-2008)[1].

– Les tendances à la hausse (significative et durable) de pollution soient inversées afin que les objectifs environnementaux puissent être atteints à l'aide des mesures exposées dans la DCE.

– La conformité avec les critères de bon état chimique (reposant sur les normes européennes relatives aux nitrates et aux pesticides ainsi que sur les valeurs seuils fixées par les états Membres) doit être atteinte d'ici fin 2015.

4.2 Les lois françaises sur l'eau

La loi du 14 décembre 1964

C'est pour réduire la pollution des eaux générée par l'activité industrielle et urbaine, que la loi-cadre sur l'eau du 16 décembre 1964 créa les agences financières de bassin. Cette loi est très importante car elle a reconnu la nécessité de contrôles plus systématiques de la pollution. Jusqu'alors l'absence de réelle politique environnementale avait provoqué une augmentation dramatique des rejets polluants, issus à la fois de l'industrie et des villes qui étendaient leurs réseaux d'assainissement, sans les accompagner systématiquement de la construction de stations d'épuration (STEP).

Au plan institutionnel, après l'avancée majeure qu'avait représentée cette première loi, différentes dispositions législatives s'efforcèrent dans le courant des années 80 de viser, par une approche sectorielle de nouveaux objectifs.

Dotées d'outils financiers, les redevances, les six Agences ont pu mobiliser les fonds nécessaires à leur action. Ce système n'a trouvé son équilibre qu'après une dizaine d'années d'application et il faudra attendre 1997 pour qu'un début de taxation de la pollution agricole soit instauré.

À partir des années cinquante, engrais et pesticides de synthèse ont été progressivement utilisés. Mais c'est la croissance des doses et la généralisation de l'emploi de ces produits qui ont conduit à la forte contamination des eaux de surface, puis des eaux souterraines au début des années quatre-vingt.

S'il n'est pas contestable que les efforts de lutte contre les pollutions ponctuelles (rejets urbains et industriels) ont permis d'obtenir des résultats, ils se trouvèrent dès lors noyés dans la dégradation générale de la qualité de l'eau, induite par la banalisation des produits chimiques, notamment en agriculture.

La loi sur l'eau de 1992

Cette situation a conduit l'élaboration de la seconde loi-cadre en 1992 (La loi n° 92-3 du 3 janvier 1992 sur l'eau a été votée à l'Assemblée nationale à l'unanimité).

1 Arrêté du 17 décembre 2008 établissant les critères d'évaluation et les modalités de détermination de l'état des eaux souterraines et des tendances significatives et durables de dégradation de l'état chimique des eaux souterraines.

Elle découlait aussi du besoin d'adapter la politique environnementale à la décentralisation mise en œuvre à partir de 1982, comme de la pression croissante exercée par les Directives européennes.

L'aspect le plus novateur de ce texte réside dans l'unification du régime de toutes les catégories d'eaux, sous l'appellation de « patrimoine commun de la nation », c'est-à-dire d'une propriété commune, sujette à des régulations de droits d'usage, quel que soit leur statut en termes de propriété.

Cette avancée a autorisé l'unification des différents régimes de police de l'eau en une seule police de l'eau et des milieux aquatiques, dont un décret unique déterminait les niveaux de prélèvement soumis à autorisation, au regard des usages, pour les eaux souterraines et les eaux de surface. La loi et ses décrets d'application accroissaient également les contraintes pesant sur les services publics de l'eau, en termes d'accessibilité et de transparence, et conféraient aux collectivités locales le droit de créer un service public de gestion décentralisée de l'assainissement.

Elle introduisait enfin de nouveaux outils de planification de la gestion de l'eau, notamment les Schémas directeurs d'aménagement et de gestion des eaux (SDAGE) et les Schémas d'aménagement et de gestion des eaux (SAGE). Une Direction de l'eau est alors créée au sein du ministère de l'Environnement, mais la définition des normes de qualité et le contrôle de l'eau destinée à l'alimentation humaine est toujours sous la responsabilité du ministère chargé de la Santé.

Pour tenir compte du fait que toutes les eaux constituaient désormais le « patrimoine commun de la nation », il fut décidé que l'ensemble des services déconcentrés des ministères de l'Agriculture, de l'Industrie, de l'Équipement et de la Santé, au niveau départemental, seraient associés au sein de Missions Inter-Services de l'eau (MISE).

Mais la loi n'abordait pas la lutte contre la pollution d'origine agricole. Quoique Brice Lalonde ait été le premier ministre de l'Environnement à l'évoquer publiquement. Pourtant, dès cette époque, de nombreux éléments témoignaient que l'application du principe « pollueur-payeur » n'était pas satisfaisante.

Dès septembre 1992, les comités de bassin engagèrent toutefois l'élaboration des SDAGE. Après deux années de concertation entre les acteurs de l'eau, dont les collectivités territoriales, ils furent adoptés par l'autorité publique, avant même la date limite qui avait été fixée à 1997.

Mais tout programme d'action ayant une incidence financière provoque des réticences quand il s'agit de payer. Ces réticences à financer des actions futures, l'indifférence de trop d'acteurs, l'opposition à toute politique environnementale de certains groupes sociaux syndicalement très organisés, sont autant de motifs qui freinèrent la réalisation des SAGE.

Il est vrai que le défi à relever par les SAGE est considérable. Des décennies durant, la Politique agricole commune (PAC), en incitant à des pratiques productivistes, n'a laissé qu'une place réduite à une politique environnementale de protection de la qualité des eaux et ce ne sont pas les SAGE, aussi justifiés soient-ils, qui pourraient à eux seuls permettre une reconquête de la qualité des eaux.

Une troisième loi sur l'eau en 2007

Cette situation avait conduit Dominique Voynet à mettre en chantier dès 1998 une nouvelle loi, qui abordait notamment la réforme des agences et du régime des redevances.

Après de nombreux rebondissement, elle sera votée en première lecture par l'Assemblée Nationale le 10 janvier 2002, trop tard pour être définitivement adoptée par les deux chambres avant l'élection présidentielle de mai 2002. Mais l'élaboration de ce projet aura permis quelques avancées dans l'appréhension des nouveaux enjeux de la gestion de l'eau.

Après un intermède de quatre nouvelles années, un nouveau projet était adopté en première lecture au Sénat au printemps 2005. **La loi n° 2006-1772 sur l'eau et les milieux aquatiques a été promulguée le 30 décembre 2006 (J.O. du 31/12/2006).**

Cette loi a deux objectifs fondamentaux :

– Donner les outils à l'administration, aux collectivités territoriales et aux acteurs de l'eau en général, pour reconquérir la qualité des eaux et atteindre en 2015 les objectifs de bon état écologique fixés par la directive cadre européenne (DCE) du 22 décembre 2000 (transposée en droit français par la loi du 21 avril 2004) et retrouver une meilleure adéquation entre ressources en eau et besoins dans une perspective de développement durable des activités économiques utilisatrices d'eau ;

– Donner aux collectivités territoriales les moyens d'adapter les services publics d'eau potable et d'assainissement aux nouveaux enjeux en termes de transparence vis-à-vis des usagers, de solidarité en faveur des plus démunis et d'efficacité environnementale.

Si les redevances classiques font toujours partie de la panoplie des moyens de financement, d'autres sont créées : « Redevances pour réseaux de collecte », « redevances pour la protection et la gestion du milieu aquatique », « redevances pour pollutions diffuses », etc., mais la « redevance azote » pour l'agriculture qui figurait dans le projet est finalement supprimée du texte.

D'une manière générale, et pour les redevances en particulier, ce sont les députés qui fixeront désormais des taux plafonds. Le taux d'une redevance devra être inférieur ou égal au taux plafond, et sera fixé par le comité de bassin selon ses besoins de financement. Cette règle confère de la souplesse au système. Les taux sont indépendants les uns des autres, et ils peuvent être ajustés à la demande sans interférer entre eux.

Mais l'ensemble des dispositions arrêtées par la loi sur l'eau et les milieux aquatiques (LEMA) sont-elles de nature à relever les défis auxquels nous sommes confrontés, au premier rang desquels se trouve l'engagement à recouvrer un bon état écologique et chimique de toutes les masses d'eaux à l'horizon 2015, comme nous y enjoint la Directive-Cadre sur l'Eau d'octobre 2000 ?

La réglementation complète prise en application de la loi sur l'eau est disponible sur le site de Legifrance. gouv. fr (rubrique eau).

Nous citons ci-dessous quelques textes relatifs aux redevances et aux modalités d'agréments des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau au titre du code de l'environnement :

– Décret n° 2008-761 du 30 juillet 2008 relatif aux modalités de recouvrement de la redevance pour pollution de l'eau d'origine domestique et de la redevance pour modernisation des réseaux de collecte due par les usagers domestiques.

– Arrêté du 19 décembre 2008 modifiant l'arrêté du 21 décembre 2007 relatif aux modalités d'établissement des redevances pour pollution de l'eau et pour modernisation des réseaux de collecte.

– Arrêté du 6 novembre 2008 établissant la liste des substances définies à l'article R. 213-48-13 du code de l'environnement relatif à la redevance pour pollutions diffuses.

– Arrêté du 5 septembre 2008 modifiant l'arrêté du 29 novembre 2006 portant modalités d'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et des milieux aquatiques au titre du code de l'environnement.

4.3 Réglementation relative aux eaux destinées à l'alimentation humaine

Concernant les eaux alimentaires la première directive (80/778/CEE) de juillet 1980 a fixé, au-delà des critères microbiologiques, des concentrations maximales admissibles (CMA) pour de nombreux paramètres chimiques nouveaux, dont les pesticides. Elle a, par ailleurs, prescrit des contenus analytiques associés à des fréquences de prélèvements qui prennent en compte, outre la nature des eaux, la population desservie par le réseau.

En raison des changements dans la pratique qu'introduisait cette directive, la transcription dans notre réglementation s'est avérée difficile, ce qui explique la publication tardive en 1989 du décret (n° 89-3 du 3 janvier) relatif aux eaux destinées à l'alimentation humaine.

Ces textes ont rapidement révélé des difficultés dans leurs applications notamment sur les dispositions relatives aux pesticides et aux conditions d'octroi de dérogations.

C'est dans ce contexte qu'une nouvelle directive 98/83/CE a été publiée en décembre 1998, après de nombreux travaux préparatoires.

La réglementation relative aux eaux alimentaires a transposé en droit français les dispositions de cette directive, par un premier décret en décembre 2001 (Décret no 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles). Ce décret abrogé a été introduit (Décret n° 2003-462 du 21 mai 2003 relatif aux dispositions réglementaires des parties I, II, III du code de la santé publique), depuis mai 2003, dans le code de la santé publique aux articles R. 1321-1 à R. 1321-66.

Le code de la santé publique fixe cinq types de règles :

1. Des règles techniques de protection et de prévention visant à assurer un bon fonctionnement de l'ensemble du système, du captage jusqu'au robinet du consommateur.

Elles portent sur :

– l'instauration de périmètres de protection des captages d'eau ;

– l'utilisation de procédés et produits de traitement, ainsi que de matériaux autorisés par le ministère chargé de la santé ;

– les modalités de conception et d'entretien des réseaux de distribution d'eau publics et privés.

2. Des procédures administratives qui requièrent pour certains aspects la consultation de l'Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments – Comité d'experts spécialisé eau).

Une autorisation du préfet est nécessaire pour pouvoir exploiter les captages d'eau et les usines de production d'eau potable. Dans le cadre de ces procédures d'autorisation, la vulnérabilité des captages et l'adéquation des traitements utilisés sont examinées.

La gestion des situations de non-respect des exigences de qualité de l'eau est encadrée. Dans Quelques situations, des dérogations subordonnées à l'absence de risque sanitaire pour la population peuvent être accordées par le préfet pour une durée limitée (3 ans au maximum, éventuellement renouvelable une fois) dans l'attente de la réalisation des travaux nécessaires pour retrouver une situation de conformité.

3. Des exigences de qualité décrites dans l'arrêté du 11 janvier 2007 relatifs aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnés aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1231-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Deux types d'exigences de qualité sont distingués :

– les *limites de qualité* portent sur des paramètres qui sont susceptibles d'avoir des effets immédiats ou à plus long terme sur la santé des consommateurs (paramètres microbiologiques – *Escherichia coli* et entérocoques – nitrates, arsenic sélénium, solvants chlorés, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), sous-produits de la désinfection de l'eau par exemple).

– les *références de qualité* concernent des substances, sans incidence directe sur la santé aux concentrations habituellement observées dans l'eau. Mais elles peuvent indiquer une dérive de la qualité de l'eau et/ou un dysfonctionnement des installations de traitement. Le dépassement de la valeur d'une de ces références s peut éventuellement entraîner un inconfort ou des désagréments pour le consommateur (couleur, fer par exemple).

4. Des modalités de suivi de la qualité des eaux afin de vérifier le respect des exigences de qualité pour les eaux délivrées aux consommateurs, mais également des limites de qualité fixées pour les ressources en eau. Le code de la santé publique définit les modalités de mise en œuvre

du contrôle sanitaire (paramètres à rechercher, fréquence des contrôles, etc.) **(arrêté du 11 janvier 2007 relatif au programme de prélèvements et d'analyse du contrôle sanitaire pour les eaux fournies par un réseau de distribution, pris en application des articles R. 1321-10, R.1321-15 et R. 1321-16 du code de la santé publique).**

Les responsables de la distribution de l'eau sont également tenus d'exercer une surveillance permanente de la qualité de l'eau qu'ils délivrent aux consommateurs. À ce titre, ils doivent effectuer un examen régulier de leurs installations et réaliser un programme d'analyses en fonction des dangers identifiés sur le système de production et de distribution d'eau.

5. des dispositions en matière d'information. Une bonne transmission des informations entre les autorités sanitaires et les responsables de la distribution d'eau sont essentielles, notamment en cas de non-conformité de la qualité de l'eau. L'information du consommateur constitue également un objectif des autorités communautaires : la directive 98/83/CE mentionne qu'il y a lieu de fournir aux consommateurs des informations adéquates et appropriées sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine et fixe des obligations aux états membres.

Dans le code de la santé publique, cela se concrétise par des obligations d'information des consommateurs :

– en cas de problème de qualité de l'eau distribuée,

– lorsqu'une dérogation aux limites de qualité est octroyée par le préfet,

– lorsqu'il y a un risque de non-respect de la qualité de l'eau, même si ce risque n'est pas lié aux installations publiques.

Réalisation des analyses relevant du contrôle sanitaire (Article R*.1321-21 du code de la santé publique)

Cet article précise que les analyses des échantillons d'eau mentionnées à l'article R.1321-119 sont réalisées par des laboratoires qui doivent obtenir un agrément préalable du ministre chargé de la santé. Cet agrément peut concerner des laboratoires ayant leur siège dans un autre état membre de la communauté européenne et justifiant qu'ils possèdent des moyens et utilisent des méthodes équivalentes. L e silence gardé pendant plus de six mois sur cette demande d'agrément vaut décision de rejet.

L'arrêté du 24 janvier 2005 (JO n° 44 du 22 février 2005) modifié par l'arrêté du 30 décembre 2006 fixe les conditions que les laboratoires doivent satisfaire pour obtenir un agrément pour la réalisation des prélèvements ou des analyses des paramètres du contrôle sanitaire :

– des eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles,

– des eaux de piscines et de baignades aménagées.

Toute demande initiale, de renouvellement ou de modification d'agrément doit être adressée par le pétitionnaire au ministère chargé de la santé, à l'aide du formulaire type disponible à l'adresse internet suivante : https://agrelab.sante.gouv.fr/agrelab.

Les méthodes d'analyse des échantillons d'eau ainsi que leurs performances doivent être soit des méthodes de référence fixées par un arrêté du ministre chargé de la santé, pris après avis de l'Afssa, soit des méthodes conduisant à des résultats équivalents.

Toutes les dispositions législatives et réglementaires sont accessibles sur le site legifrance.gouv.fr sous les thèmes « eau » et « eau potable ».

H

Mémento du laboratoire d'analyse d'eau

1 • GRANDEURS ET UNITÉS DE MESURE

1.1 Multiples et sous-multiples d'unités

Préfixe à mettre avant le nom de l'unité	Symbole à mettre avant celui de l'unité	Facteur par lequel est multipliée l'unité	
exa	E	10^{18}	1 000 000 000 000 000 000
peta	P	10^{15}	1 000 000 000 000 000
téra	T	10^{12}	1 000 000 000 000
giga	G	10^{9}	1 000 000 000
méga	M	10^{6}	1 000 000
kilo	k	10^{3}	1 000
hecto	h	10^{2}	100
déca	da	10^{1}	10
	unité	10°	1
déci	d	10^{-1}	0,1
centi	c	10^{-2}	0,01
milli	m	10^{-3}	0,001
micro	µ	10^{-6}	0,000 000 1
nano	n	10^{-9}	0,000 000 001
pico	p	10^{-12}	0,000 000 000 001
femto	f	10^{-15}	0,000 000 000 000 001
atto	a	10^{-18}	0,000 000 000 000 000 001

1.2 Unités de mesure spécifiques à la chimie des eaux

Les unités utilisées en chimie des eaux, à savoir les équivalents, le degré français et les titres (TA, TAC, SAF) sont explicités respectivement aux paragraphes A-12.1.1, A-12.1.3 et A-5.

Notations particulières

Pour exprimer les concentrations, les professionnels du traitement des eaux utilisent parfois les sous-multiples ppm (partie par million), ppb (partie par billion) et ppt (partie par trillion), voire même parfois ppq (partie par quadrillion). Au sens strict du terme, un ppm correspond à une partie par million, soit à 1 μg par kg. En fait on utilise abusivement cette notation en la rapportant à une unité de volume (le litre), considéré comme équivalent au kilogramme (unité de masse).

Les unités ppb, ppt et ppq posent en outre le problème de la confusion possible entre les noms des multiples d'unités des systèmes anglo-saxons et européens (voir tableau ci-dessous). Se référant aux notations américaines ces appellations seraient donc à bannir pour éviter les confusions.

Multiple d'unité	Appellation courante dans les différents systèmes		
	Système européen	Système britannique « ancien »	Système américain et britannique « moderne »
10^6	million		
10^9	milliard	thousand million	billion
10^{12}	billion		trillion
10^{15}	billiard	thousand billion	quadrillion
10^{18}	trillion		quintillion
10^{24}	quadrillion		-
10^{30}	quintillion		-

1.3 Unités anglo-saxonnes

Mesures de longueurs

1 *inch* = 2,54 cm ; 1 cm = 0,394 *inch* ;

1 *foot* = 12 inches = 30,48 cm ; 1 cm = 0,0328 *foot* ;

1 mile marin = 1 853 m.

Inches	Centimètres	Inches	Centimètres	Foot (1 foot = 12 inches)	Centimètres
1/64	0,039 7	1	2,54	1	30,48
1/32	0,079 4	2	5,08	2	60,96
1/16	0,015 88	3	7,62	3	91,44
1/8	0,317 5	4	10,16	4	121,92
1/4	0,635 0	5	12,70	5	152,40
3/8	0,952 5	6	15,24	6	182,88
1/2	1,270 0	7	17,78	7	213,36
5/8	1,587 5	8	20,32	8	243,84
3/4	1,905 0	9	22,86	9	274,32
7/8	2,222 5	10	25,40	10	304,80

Mesures de surface

1 *square inch* = 6,4516 cm^2 ; 1 cm^2 = 0,155 *square inch* ;

1 *square foot* = 929 cm^2 ; 1 cm^2 = 1,08 . 10^3 *square foot* .

Mesures de volume

1 *cubic inch* = 16,387 cm^3 ; 1 cm^3 = 6,1 . 10^{-2} *cubic inch* ;

1 *cubic foot* = 28 316,8 cm^3 ; 1 cm^2 = 3,53 . 10^{-5} *cubic foot* ;

1 *gallon* (GB) = 4,5435 litres ; 1 litre = 0,220 *gallon* (GB) ;

1 *gallon* (USA) = 3,7854 litres ; 1 litre = 0,264 *gallon* (USA).

Mesures de poids et de masse

1 lb (*pound*) = 453,5924 grammes ; 1 gramme = 2,20462 . 10^{-3} lb ;

1 oz (*ounce*) = 28,3495 grammes ;

1 grain = 0,064798 gramme.

Mesures de densité

1 lb/ft^3 = 1,60 . 10^{-2} g/cm^3 ; 1 g/cm^3 = 62,4 lb/ft^3.

Mesures de pression

1 *pound per square inch* (p.s.i.) = 0,0703 kg/cm^2 ; 1 kg/cm^2 = 14,2 p.s.i. ;

1 *pound per square inch* (p.s.i.) = 0,06894 bar ; 1 bar = 14,5 p.s.i.

Mesures de quantités de chaleur

1 BTU (*British Thermal Unit*) = 252 calories ; 1 calorie = 3,97 . 10^{-3} BTU ;

1 BTU (*British Thermal Unit*) = 1 054,8 J ; 1 joule = 9,49 . 10^{-4} BTU ;

1 BTU (*British Thermal Unit*) = 2,93 . 10^{-4} kWh ; 1 kWh = 3 417 BTU ;

1 BTU (*British Thermal Unit*) = 6,59 . 10^{15} MeV ; 1 MeV = 1,52 . 10^{-16} BTU.

1.4 Conversion des degrés Celsius et Fahrenheit

°C	°F	°C	°F	°C	°F	°C	°F
– 10	14	1	33,8	11	51,8	21	69,8
– 9	15,8	2	35,6	12	53,6	22	71,6
– 8	17,6	3	37,4	13	55,4	23	73,4
– 7	19,4	4	39,2	14	57,2	24	75,2
– 6	21,2	5	41	15	59	25	77
– 5	23	6	42,8	16	60,8	26	78,8
– 4	24,8	7	44,6	17	62,6	27	80,6
– 3	26,6	8	46,4	18	64,4	28	82,4
– 2	28,4	9	48,2	19	66,2	29	84,2
– 1	30,2	10	50	20	68	30	86
0	32						
	$°C = \frac{5}{9}(°F - 32)$			$°F = 1{,}8\ °C + 32$			

1.5 Degrés Baumé et densité

Le degré Baumé (du nom d'un chimiste français) permet d'indiquer la concentration d'une solution en se référant à sa densité (ou à sa masse volumique). Noté °Be, il s'exprime par :

$$°Be = a - \frac{b}{d}$$

d étant la densité de la solution et a et b des coefficients dont la valeur varie selon la densité de la solution par rapport à celle de l'eau.

Pour les liquides plus denses que l'eau, ces deux coefficients ont la même valeur, égale à 145, alors que pour les liquides plus légers que l'eau, les valeurs sont de 130 pour a et 140 pour b.

Liquides plus lourds que l'eau :

$$d = \frac{145}{145 - B}, \quad B = 145 - \frac{d}{145}$$

Liquides plus légers que l'eau :

$$d = \frac{140}{130 + B}, \quad B = \frac{140}{d} - 130$$

Bibliographie

N. Legent. Unités de mesure SI. Techniques de l'ingénieur. Mesures et contrôle. 2001, RB1, 23, 23.1-23.16.

2 • LES ÉLÉMENTS CHIMIQUES

2.1 Classification périodique des éléments

(Tableau page suivante)

Classification périodique

▼ PÉRIODIQUE

Groupe IA

Numéro atomique — **4**
Point d'ébullition (°C) — 2770
Point de fusion (°C) — 1277
Masse volumique (20 °C) (g/cm³) (1) — 1,85
Structure électronique — $1s^2 2s^2$
Symbole (3) — **Be**
Nom — Béryllium
Masse atomique (2) — 9,0122
Degrés d'oxydation dans les composés (5, 4, 3, 2 : 5 = degré d'oxydation le plus important). — 2

Notes : (1) Les valeurs données pour les éléments gazeux sont en gramme par litre à 1 013 mbar.
(2) Basé sur le ^{12}C ; les parenthèses ( ) indiquent l'isotope le plus stable ou le plus répandu.
(3) Caractère gras = solide ; italique = gaz ; grisé = liquide (20 °C) ; étroit = artificiel.

(**Ti**) (*Cl*) (Hg) (Tc)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
			IIIB	IVB	VB	VIB	VIIB	VIIIB	
1	**1** 1,00797 – 252,7 1,–1 – 259,2 0,084 ***H*** $1s^1$ Hydrogène								
2	**3** 6,939 1330 2 180,5 0,53 **Li** $1s^2 2s^1$ Lithium	**4** 9,0122 2770 2 1277 1,85 **Be** $1s^2 2s^2$ Béryllium							
3	**11** 22,9698 892 1 97,8 0,97 **Na** (Ne) $3s^1$ Sodium	**12** 24,312 1107 2 650 1,74 **Mg** (Ne) $3s^2$ Magnésium							
4	**19** 39,102 760 1 63,7 0,86 **K** (Ar) $3d^0 4s^1$ Potassium	**20** 40,08 1440 2 838 1,55 **Ca** (Ar) $3d^0 4s^1$ Calcium	**21** 44,956 2730 3 1539 3,0 **Sc** (Ar) $3d^1 4s^2$ Scandium	**22** 47,90 3260 4,3 1660 4,51 **Ti** (Ar) $3d^2 4s^2$ Titane	**23** 50,942 3450 5,4,3,2,0 1890 6,1 **V** (Ar) $3d^3 4s^2$ Vanadium	**24** 51,996 2665 6,3,2,0 1857 7,19 **Cr** (Ar) $3d^5 4s^1$ Chrome	**25** 54,938 2150 7,6,4,3,2,0,–1 1245 7,43 **Mn** (Ar) $3d^5 4s^2$ Manganèse	**26** 55,847 3000 3,2,0,–2 1536 7,86 **Fe** (Ar) $3d^6 4s^2$ Fer	**27** 58,933 2900 3,2,0,–1 1495 8,9 **Co** (Ar) $3d^7 4s^2$ Cobalt
5	**37** 85,47 688 1 38,9 1,53 **Rb** (Kr) $4d^0 5s^1$ Rubidium	**38** 87,62 1380 2 768 2,6 **Sr** (Kr) $4d^0 5s^2$ Strontium	**39** 88,905 2927 3 1523 4,47 **Y** (Kr) $4d^1 5s^2$ Yttrium	**40** 91,22 3580 4 1852 6,49 **Zr** (Kr) $4d^2 5s^2$ Zirconium	**41** 92,906 3300 5,3 2468 8,4 **Nb** (Kr) $4d^4 5s^1$ Niobium	**42** 95,94 5560 6,5,4,3,2,0 2617 10,2 **Mo** (Kr) $4d^5 5s^1$ Molybdène	**43** (99) – 7 2172 11,5 Tc (Kr) $4d^6 5s^1$ Technétium	**44** 101,07 4900 8,6,4,3,2,0,2 23106 12,2 **Ru** (Kr) $4d^7 5s^1$ Ruthénium	**45** 102,905 4500 5,4,3,2,1,0 1966 12,4 **Rh** (Kr) $4d^8 5s^1$ Rhodium
6	**55** 132,905 690 1 28,7 1,90 **Cs** (Xe)$5d^0 6s^1$ Césium	**56** 137,34 1640 2 725 3,5 **Ba** (Xe)$5d^0 6s^2$ Baryum	**57** 138,91 3470 3 920 * 6,17 **La** (Xe)$5d^1 6s^2$ Lanthane	**72** 178,49 5400 4 2222 13,1 **Hf** (Xe)$4f^{14} 5d^2 6s^2$ Hafnium	**73** 180,948 5425 5 29,96 16,7 **Ta** (Xe)$4f^{14} 5d^3 6s^2$ Tantale	**74** 183,85 5930 6,5,4,3,2,0 34107 19,3 **W** (Xe)$4f^{14} 5d^4 6s^2$ Tungstène	**75** 186,2 5900 7,6,4,2,-1 3180 21,0 **Re** (Xe)$4f^{14} 5d^5 6s^2$ Rhénium	**76** 190,2 5500 8,6,4,3,2,0,-2 3045 22,6 **Os** (Xe)$4f^{14} 5d^6 6s^2$ Osmium	**77** 192,2 5300 6,4,3,2,1,0,-1 2410 22,5 **Ir** (Xe)$4f^{14} 5d^7 6s^2$ Iridium
7	**87** (223) – 1 (27) – **Fr** (Rn)$6d^0 7s^1$ Francium	**88** (226) – 2 700 5,50 **Ra** (Rn)$6d^0 7s^2$ Radium	**89** (227) – 3 1050 ** 10,07 **Ac** (Rn)$6d^1 7s^2$ Actinium	**104** (227) (Rt /Ku) Unq (Rn)$5f^{14} 6d^2 7s^2$ Unnilquadium	**105** (227) (Ha/Ns) Unp (Rn)$5f^{14} 6d^3 7s^2$ Unnilpentium	**106** (227) Unh (Rn)$5f^{14} 6d^4 7s^2$ Unnilhexium	**107** (261) (262) **Ns** (Rn)$5f^{14} 6d^5 7s^2$ Nielsbohrium	**108** (264) (265) **Hs** (Rn)$5f^{14} 6d^6 7s^2$ Hassium	**109** (266) **Mt** (Rn)$5f^{14} 6d^7 7s^2$ Meitnerium

*	**58** 140,12 3468 4,3 795 6,77 **Ce** (Xe)$4f^2 5d^0 6s^2$ Cérium	**59** 140,907 3127 4,3 935 6,48 **Pr** (Xe)$4f^3 5d^0 6s^2$ Praséodyme	**60** 144,24 3027 3 1024 7,00 **Nd** (Xe)$4f^4 5d^0 6s^2$ Néodyme	**61** (147) – 3 (1080) 7,22 Pm (Xe)$4f^5 5d^0 6s^2$ Prométhium	**62** 150,35 1900 3,2 1072 7,54 **Sm** (Xe)$4f^6 5d^0 6s^2$ Samarium
**	**90** 232,038 3850 4 1750 11,7 **Th** (Rn) $6d^2 7s^2$ Thorium	**91** (231) – 5,4 (1554) 15,4 **Pa** (Rn)$5f^2 6d^1 7s^2$ Protactinium	**92** 238,04 3818 6,5,4,3 1132 18,97 **U** (Rn)$5f^3 6d^1 7s^2$ Uranium	**93** (237) – 6,5,4,3 637 20,5 Np (Rn)$5f^4 6d^1 7s^2$ Neptunium	**94** (242) 3235 6,5,4,3 640 19,74 Pu (Rn)$5f^6 6d^0 7s^2$ Plutonium

des éléments

10	11	12	13	14	15	16	17	18
								GAZ NOBLES
								2 4,0026 0 – 268,9 – 269,7 0,17 ***He*** $1s^2$ Hélium
			IIIA	IVA	VA	VIA	VIIA	
			5 10,811 3 – (2300) 2,46, **B** $1s^22s^22p^1$ Bore	**6** 12,0111 4,2,–4 4830 3727g 3550d 2,26g 3,51d **C** $1s^22s^22p^2$ Carbone	**7** 14,0067 5,4,3,2,–3 – 195,8 – 210 1,17 ***N*** $1s^22s^22p^3$ Azote	**8** 15,8994 –2,–1 – 183 – 218,8 1,33 ***O*** $1s^22s^22p^4$ Oxygène	**9** 18,9984 –1 – 188,2 – 219,6 1,56 ***F*** $1s^22s^22p^5$ Fluor	**10** 20,183 0 – 246 – 248,6 0,84 ***Ne*** $1s^22s^22p^6$ Néon
			13 26,9815 3 2450 660,4 2,70 **Al** (Ne) $3s^23p^1$ Aluminium	**14** 28,086 4,–4 2680 1410 2,33 **Si** (Ne) $3s^23p^2$ Silicium	**15** 30,9738 5,3,–3 280b 44,2b 1,82b **P** (Ne) $3s^23p^3$ Phosphore	**16** 32,064 6,3,4,–2 444,6 112,8 2,06 **S** (Ne) $3s^23p^4$ Soufre	**17** 35,453 7,5,3,1,–1 – 34,7 – 101,0 2,95 ***Cl*** (Ne) $3s^23p^5$ Chlore	**18** 39,948 0 – 185,8 – 189,4 1,66 ***Ar*** (Ne) $3s^23p^6$ Argon
IB		IIB						
28 58,71 3,2,0 2730 1453 8,9 **Ni** (Ar) $3d^84s^2$ Nickel	**29** 63,54 2,1 2595 1083 8,92 **Cu** (Ar) $3d^{10}4s^1$ Cuivre	**30** 65,37 2 906 419,5 7,14 **Zn** (Ar) $3d^{10}4s^2$ Zinc	**31** 69,72 3 2237 29,8 5,91 **Ga** (Ar) $3d^{10}4s^24p^1$ Gallium	**32** 72,59 4 2830 937,4 5,32 **Ge** (Ar) $3d^{10}4s^24p^2$ Germanium	**33** 74,922 ± 3,5 5,3,–3 613 sublim 5,72 **As** (Ar) $3d^{10}4s^24p^3$ Arsenic	**34** 78,96 6,4,–2 685 217 4,82 **Se** (Ar) $3d^{10}4s^24p^4$ Sélénium	**35** 79,904 7,5,3,1,–1 58 – 7,2 3,12 **Br** (Ar) $3d^{10}4s^24p^5$ Brome	**36** 83,80 2 – 152 – 157,3 3,48 ***Kr*** (Ar) $3d^{10}4s^24p^6$ Krypton
46 106,4 4,2,0 3980 1552 12,0 **Pd** (Kr) $4d^{10}5s^0$ Palladium	**47** 187,879 2,1 2210 962 18,5 **Ag** (Kr) $4d^{10}5s^1$ Argent	**48** 112,40 2 765 320,9 8,65 **Cd** (Kr) $4d^{10}5s^2$ Cadmium	**49** 114,82 3 2000 156,6 7,31 **In** (Kr) $4d^{10}5s^25p^1$ Indium	**50** 118,69 4,2 2270 231,9 7,30 **Sn** (Kr) $4d^{10}5s^25p^2$ Étain	**51** 121,75 5,3,–3 1380 630,5 5,52 **Sb** (Kr) $4d^{10}5s^25p^3$ Antimoine	**52** 127,60 6,4,–2 989,8 449,5 6,24 **Te** (Kr) $4d^{10}5s^25p^4$ Tellure	**53** 126,804 7,5,1,–1 183 113,7 4,94 **I** (Kr) $4d^{10}5s^25p^5$ Iode	**54** 131,30 6,4,2 – 108,0 – 111,9 5,49 ***Xe*** (Kr) $4d^{10}5s^25p^6$ Xénon
78 195,09 4,2,0 4530 1772 21,4 **Pt** (Xe) $4f^{14}5d^96s^1$ Platine	**79** 196,967 3,1 2970 1063 19,3 **Au** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^1$ Or	**80** 200,59 2,1 357 – 38,4 13,6 **Hg** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^2$ Mercure	**81** 204,37 3,1 1457 303 11,85 **Tl** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^26p^1$ Thallium	**82** 207,19 4,2 1725 327,4 11,4 **Pb** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^26p^2$ Plomb	**83** 208,980 5,3 1560 271,3 9,8 **Bi** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^26p^3$ Bismuth	**84** (210) 6,4,2 – 254 (9,2) **Po** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^26p^4$ Polonium	**85** (210) – – (302) – **At** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^26p^5$ Astate	**86** (222) 2 (–61,8) (–71) – ***Rn*** (Xe) $4f^{14}5d^{10}6s^26p^6$ Radon
110 (227) Uun Ununnilium	**111** (227) Uuu Unununium	**112** (227) Uub Ununbium	**113** (227) Uut Ununtrium	**114** (227) Uuq Ununquadium	**115** (227) Uup Ununpentium	**116** (227) Uuh Ununhexium	**117** (227) Uus Ununseptium	**118** (227) Uuo Ununoctium

63 151,96 3,2 1439 822 5,25 **Eu** (Xe)$4f^7 5d^0 6s^2$ Europium	**64** 157,26 3 3000 1312 7,89 **Gd** (Xe)$4f^7 5d^1 6s^2$ Gadolinium	**65** 158,924 4,3 2800 1356 8,25 **Tb** (Xe)$4f^9 5d^0 6s^2$ Terbium	**66** 162,50 3 2600 1407 8,56 **Dy** (Xe)$4f^{10} 5d^0 6s^2$ Dysprosium	**67** 164,838 3 2600 1470 8,78 **Ho** (Xe)$5f^{11} 5d^0 6s^2$ Holmium	**68** 167,26 3 2900 1522 9,05 **Er** (Xe)$4f^{12} 5d^0 6s^2$ Erbium	**69** 168,634 3,2 1727 1545 9,33 **Tm** (Xe)$4f^{12} 5d^0 6s^2$ Thulium	**70** 173,04 3,2 1427 824 6,96 **Yb** (Xe)$4f^{14} 5d^0 6s^2$ Ytterbium	**71** 174,97 3 3327 1656 9,84 **Lu** (Xe)$4f^{14} 5d^1 6s^2$ Lutétium
95 (243) 6,5,4,3 – 994 13,67 **Am** (Rn)$5f^7 6d^0 7s^2$ Américium	**96** (247) 4,3 – 1340 13,5 **Cm** (Rn)$5f^7 6d^1 7s^2$ Curium	**97** (247) 4,3 – 986 13,25 **Bk** (Rn)$5f^9 6d^0 7s^2$ Berkélium	**98** (251) 4,3 – 900 15,1 **Cf** (Rn)$5f^{10} 6d^0 7s^2$ Californium	**99** (252) 3 – – – **Es** (Rn)$5f^{11} 6d^0 7s^2$ Einsteinium	**100** (257) 3 – – – **Fm** (Rn)$5f^{12} 6d^0 7s^2$ Fermium	**101** (258) 3 – – – **Md** (Rn)$5f^{13} 6d^0 7s^2$ Mendélévium	**102** (259) 3,2 – – – **No** (Rn)$5f^{14} 6d^0 7s^2$ Nobélium	**104** (260) 3 – – – **Lr** (Rn)$5f^{14} 6d^0 7s^2$ Lawrencium

2.2 Masses atomiques relatives

Grandeur sans dimension encore appelée « poids atomique », la masse atomique relative est le rapport de la masse moyenne par atome au 1/12e de la masse du nucléide ^{12}C.

Numéro atomique	Nom	Symbole	Masse atomique relative	Numéro atomique	Nom	Symbole	Masse atomique relative
89	Actinium	Ac	227	101	Mendélévium	Md	258
13	Aluminium	Al	26,9815	80	Mercure	Hg	200,59
95	Américium	Am	243	42	Molybdène	Mo	95,94
51	Antimoine	Sb	121,75				
47	Argent	Ag	187,879	60	Néodyme	Nd	144,24
18	Argon	Ar	39,948	10	Néon	Ne	20,183
33	Arsenic	As	74,9216	93	Neptunium	Np	237
85	Astate	At	210	28	Nickel	Ni	58,71
7	Azote	N	14,0067	41	Niobium	Nb	92,906
				102	Nobélium	No	259
56	Baryum	Ba	137,34				
97	Berkélium	Bk	249	79	Or	Au	196,967
4	Béryllium	Be	9,0133	76	Osmium	Os	190,2
83	Bismuth	Bi	208,980	8	Oxygène	O	15,899 4
5	Bore	B	10,811				
35	Brome	Br	79,904	46	Palladium	Pd	106,4
					Phosphore	P	30,9738
48	Cadmium	Cd	112,40	78	Platine	Pt	195,09
20	Calcium	Ca	40,08	82	Plomb	Pb	207,19
98	Californium	Cf	249	94	Plutonium	Pu	242
6	Carbone	C	12,01115	84	Polonium	Po	210
58	Cérium	Ce	140,12	19	Potassium	K	39,102
55	Césium	Cs	132,905	59	Praséodyme	Pr	140,907
17	Chlore	Cl	35,453	61	Prométhium	Pm	147
24	Chrome	Cr	51,996	91	Protactinium	Pa	231
27	Cobalt	Co	58,9332				
29	Cuivre	Cu	63,54	88	Radium	Ra	226
96	Curium	Cm	246	86	Radon	Rn	222
				75	Rhénium	Re	186,2
66	Dysprosium	Dy	162,50	45	Rhodium	Rh	102,905
				37	Rubidium	Rb	85,47
99	Einsteinium	Es	252	44	Ruthénium	Ru	101,07
68	Erbium	Er	167,26				
50	Étain	Sn	118,69	62	Samarium	Sm	150,35
63	Europium	Eu	151,96	21	Scandium	Sc	44,956
				34	Sélénium	Se	78,96
26	Fer	Fe	55,847	14	Silicium	Si	28,086
100	Fermium	Fm	255	11	Sodium	Na	22,9698
9	Fluor	F	18,9984	16	Soufre	S	32,064
87	Francium	Fr	223	38	Strontium	Sr	87,62
64	Gadolinium	Gd	157,25	73	Tantal	Ta	180,948
31	Gallium	Ga	69,72	43	Technétium	Tc	99
32	Germanium	Ge	72,59	52	Tellure	Te	127,60
				65	Terbium	Tb	158,924
72	Hafnium	Hf	178,49	81	Thallium	Tl	204,37
2	Hélium	He	4,0026	90	Thorium	Th	232,038
67	Holmium	Ho	164,838	69	Thulium	Tm	168,634
1	Hydrogène	H	1,00797	22	Titane	Ti	47,90
				74	Tungstène	W	183,85
49	Indium	In	114,82				
53	Iode	I	126,804	92	Uranium	U	238,04
77	Iridium	Ir	192,2				
				23	Vanadium	V	50,942
36	Krypton	Kr	83,80				
				54	Xénon	Xe	131,30
57	Lanthane	La	138,91				
103	Lawrencium	Lr	260				
3	Lithium	Li	6,939	70	Ytterbium	Yb	173,04
71	Lutétium	Lu	174,97	39	Yttrium	Y	88,905
12	Magnésium	Mg	24,312	30	Zinc	Zn	65,37
25	Manganèse	Mn	54,9380	40	Zirconium	Zr	91,22

2.3 Étymologie des éléments

N° atomique	Élément	Année de découverte	Origine du nom
1	Hydrogène	1766	du grec, *hudro* et *genes*, générateur d'eau
2	Hélium	1868	du grec, *hélios*, soleil
3	Lithium	1817	du grec, *lithos*, pierre
4	Béryllium	1798	du minerai béryl dans lequel il a été découvert
5	Bore	1808	abréviation de borax
6	Carbone		du latin, *carbo* (charbon de bois)
7	Azote	1722	de alpha (privatif) et du grec, *zoé*, vie son symbole N est l'abréviation de nitre ou salpêtre
8	Oxygène	1774	du grec, *oxys* et *genes*, générateur d'eau
9	Fluor	1771	du latin, *fluo*, couler
10	Néon	1898	du grec, *néos*, nouveau
11	Sodium	1807	du latin, *soda*, soude le symbole Na vient du latin *natrium*, poudre
12	Magnésium	1775	de Magnésia, ville d'Asie Mineure
13	Aluminium	1827	du latin, *alumen*, alun
14	Silicium	1823	de silex
15	Phosphore	1669	du grec, *phosphoros*, porteur de lumière
16	Soufre		du latin, *sulfur*
17	Chlore	1774	du grec, *chloros*, jaune-vert
18	Argon	1894	du grec, *argos*, inactif
19	Chrome	1797	du grec, *chroma*, couleur
20	Manganèse	1774	de *magnès*, aimant
21	Fer		du latin, *ferrum*
22	Cobalt	1735	de l'allemand, *Kobold*, esprit malin (ses minerais sont toxiques)
23	Nickel	1751	de l'allemand, *Kupfernickel*, faux cuivre
24	Cuivre		de Cyprium, ancien nom de l'île de Chypre
25	Zinc	XVIe s.	de *Zink*, nom allemand de l'étain
26	Gallium	1875	de Gallia, la Gaulle
27	Germanium	1886	de Germania, appellation latine de l'Allemagne
28	Arsenic	1250	de *arsenikos*, mâle (les grecs croyant au sexe des métaux)
29	Sélénium	1817	du grec, *selene*, lune
30	Brome	1826	du grec, *bromos*, odeur nauséabonde
31	Krypton	1898	du grec, *kryptos*, caché

N° atomique	Élément	Année de découverte	Origine du nom
32	Rubidium	1861	du latin, *rubidus*, rouge
33	Strontium	1790	de Strontian, village d'Écosse
34	Yttrium	1794	de Ytterby, ville de Suède
35	Zirconium	1789	du nom de la pierre, zircon (de jargon)
36	Niobium	1801	de Niobé, fille du roi Tantale
37	Molybdène	1778	du grec, *molubdos*, plomb
38	Technétium	1937	du grec, *technetos*, artificiel
39	Ruthénium	1844	de Ruthénia, appellation latine de la Russie
40	Rhodium	1803	du grec, *rhodon*, rose
41	Palladium	1803	du nom de l'astéroïde Pallas
42	Argent		du latin, *argentum*
43	Cadmium	1817	du grec, *kadmia*, terre
44	Indium	1863	planète (alchimie). Son symbole vient de qui veut dire argent à l'état liquide
45	Potassium	1807	son symbole vient du latin *calium*, potasse
46	Calcium	1808	du latin, *calx*, chaux
47	Scandium	1879	de Scandinavie
48	Titane	1791	de Titan, géant de la mythologie grecque
49	Vanadium	1830	de Vanadis, déesse scandinave
50	Étain		du latin, *stannum*
51	Antimoine		du grec, *antimonos*, opposé à la solitude (est rarement présent seul)
52	Tellure	1782	du latin, *tellus*, terre
53	Iode	1811	du grec, *iôdès*, violet
54	Xénon	1898	du grec, *xénos*,étranger
55	Césium	1860	du latin, *caesus*, le ciel
56	Baryum	1808	du grec, *barys*, lourd
57	Lanthane	1839	du grec, *lanthanein*, se cacher
58	Hafnium	1923	de Hafnia, appellation latine de Copenhague
59	Tantale	1802	de Tantale roi de la mythologie grecque
60	Tungstène	1783	du suédois, *tung sten*, pierre lourde
61	Rhénium	1925	de Rhenus, nom latin du Rhin
62	Osmium	1804	du grec, *osmé*, odeur
63	Iridium	1804	du grec, *iris*, arc-en-ciel
64	Platine	XVIe s.	du latin, *platina*, petit argent
65	Or		du latin, *aurum*
66	Mercure		du nom de la couleur (bleu indigo) de son spectre

N° atomique	Élément	Année de découverte	Origine du nom
67	Thallium	1861	du grec, *thallos*, jeune pousse (de la forme de son spectre)
68	Plomb		du latin, *plumbum*
69	Bismuth	1450	de l'allemand, *Wissmuth*, masse blanche
70	Polonium	1898	de Pologne
71	Astate		du grec, *astatos*, instable
72	Radon	1900	de radium
73	Francium	1939	de France
74	Radium	1898	du latin, *radius*, rayons
75	Actinium	1899	du grec, *aktinos*, rayons
76	Cérium	1803	de l'astéroïde Cérès
77	Praséodyme	1885	du grec, *prasios dydimos*, jumeau vert (couleur de ses sels)
78	Néodyme		du grec, *neo dydimos*, nouveaux jumeaux
79	Prométhéum	1947	de Prométhée
80	Samarium	1879	de Samarskite, minerai découvert par le russe Samarsky
81	Europium	1896	de Europe
82	Gadolinium	1880	de Gadolinite, minerai découvert par le chimiste finlandais du même nom
83	Terbium	1843	de Ytterby, ville de Suède
84	Dysprosium	1896	du grec *dysprositos*, d'un accès difficile
85	Holmium	1879	de Holmia, appellation latine de Stockolm
86	Erbium	1843	de Ytterby, ville de Suède
87	Thulium	1879	de Thulé
88	Ytterbium	1907	de Ytterby, ville de Suède
89	Lutécium	1907	de Lutécia, ancien nom de Paris
90	Thorium	1828	du nom du Dieu scandinave, Thor
91	Protactinium	1917	du grec, *protos*, premier, et actinium
92	Uranium	1789	de Uranus
93	Neptunium	1940	de Neptune
94	Plutonium	1940	de Pluton
95	Américium	1944	d'Amérique (analogie avec Europium)
96	Curium	1944	du nom des savants Pierre et Marie Curie
97	Berkélium	1949	de Berkeley, Université de Californie
98	Einsteinium	1952	du nom du savant Einstein
99	Californium	1950	de Californie
100	Fermium	1953	du nom du savant Fermi
101	Mendelevium	1955	du nom du savant Mendeleïev
102	Nobelium	1957	du nom du savant Nobel
103	Lawrencium	1961	du nom du savant Lawrence

Bibliographie

J. Angenault (1991). La chimie, dictionnaire encyclopédique. DUNOD.

3 • MÉMENTO CHIMIQUE

3.1 Acides et bases

3.1.1 Notion de normalité

Les solutions normales sont des liqueurs titrées, ajustées de façon que chacune d'elles renferme une masse de corps permettant à deux solutions réagissantes de réagir volume à volume en mettant en jeu dans la réaction l'équivalent de 1 g d'hydrogène par litre.

Entre deux liqueurs réagissantes, l'une N fois normale et l'autre N_1 fois normale, la relation qui lie entre elles les valeurs N et N_1 devient :

$$NV = N_1 V_1$$

V et V_1 étant les volumes correspondant aux solutions N et N_1.

Une solution normale contiendra une masse m donnée par la formule suivante :

$$m = \frac{M}{n} \times \frac{V}{1\,000}$$

M = Masse moléculaire de la substance.

n = son coefficient de titration.

V = son volume.

Et dans V millilitres d'une liqueur N fois normale, on a :

$$m = \frac{M}{n} \times N \times \frac{V}{1\,000}$$

Lorsqu'une solution contient une masse de substance supérieure à celle qui correspond à la normalité, on peut ramener le titre de cette solution à sa valeur normale de la façon suivante :

Soient m la masse au litre de substance correspondant à une liqueur normale, m' la masse au litre de cette substance dans la solution à réajuster.

La masse m sera donc contenue dans $\frac{1\,000 \times m}{m'}$ mL de cette solution.

Dans une fiole jaugée de 1 000 mL bien sèche, introduire :

$$\left(\frac{m' - m}{m}\right) \times 1\,000 \text{ mL d'eau déionisée.}$$

Compléter ensuite jusqu'au trait de jauge avec la solution à réajuster. Ne pas oublier d'agiter énergiquement pour homogénéiser la solution.

3.1.2 Concentrations des acides et bases usuels

Les acides et bases concentrés commercialisés sont caractérisés par leur pourcentage en poids et par leur densité. Le pourcentage en poids corres-

pond à la quantité de produit pur (en g) dans 100 g de solution. À partir de ces caractéristiques, il est possible de déterminer la molarité (et/ou la normalité) de ces solutions.

Soit une solution d'acide ou de base à A % et possédant une densité d.

Ces données indiquent que la solution contient A g de produit pur (acide pur ou base pure) dans 100 g de solution, donc dans 100/d mL de solution.

On en déduit que 1 L de la solution contient 10.A.d g de produit pur.

La molarité de la solution s'obtient alors en divisant cette concentration de 10.A.d g/L par la masse molaire du produit considéré ; de la même manière, la normalité sera obtenue en divisant par la masse de l'équivalent.

Composé	Masse molaire	Caractéristiques des solutions commerciales courantes		Molarité	Normalité
		%	Densité à 20 °C		
Acide chlorhydrique (HCl)	36,46	36,5 à 38 %	1,18	12,1	12,1
Acide sulfurique (H_2SO_4)	98,08	96 à 98 %	1,84	18,2	36,4
Acide nitrique (HNO_3)	63,01	68 à 70 % 90 %	1,40 1,50	15,3 21,4	15,3 21,4
Acide orthophosphorique (H_3PO_4)	98,0	85 %	1,68	14,6	43,8
Acide acétique (CH_3COOH)	60,05	99,7 %	1,05	17,4	17,4
Ammoniaque (NH_4OH)	35,05	28 à 30 %	0,90	7,4	7,4
Hydroxyde de sodium en solution (lessive de soude) (NaOH)	40,00	31 à 33 % 50 à 52 %	1,33 1,55	10,7 19,8	10,7 19,8

L'eau régale est un mélange d'acide nitrique concentré (1 volume) et d'acide chlorhydrique concentré (3 volumes), qui a la propriété de dissoudre de nombreux métaux, et en particulier les métaux nobles comme l'or ou le platine.

3.1.3 Dosages acide/base

■ Acide chlorhydrique/hydroxyde de sodium

□ **Principe**

Le dosage de l'acide chlorhydrique par l'hydroxyde de sodium est basé sur la réaction de neutralisation suivante :

$$HCl + NaOH \rightarrow NaCl + H_2O$$

□ **Réactifs**

– Solution d'hydroxyde de sodium *N*.

– Hélianthine à 0,2 % ou solution alcoolique de phénolphtaléine à 2 %.

> **Remarque**
> La concentration de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée pour le titrage sera adaptée en fonction de la concentration de l'acide.

□ **Mode opératoire en présence d'hélianthine**

Placer l'acide chlorhydrique dans la burette. Introduire 10 mL d'hydroxyde de sodium *N* dans une fiole conique avec 10 mL d'eau permutée bouillie et 1 goutte d'hélianthine. Verser l'acide jusqu'au virage du jaune au rose « pelure d'oignon ».

□ **Calculs**

Soit *V* le volume d'acide versé pour une prise d'essai de 10 mL d'hydroxyde de sodium *N*, le titre de l'acide sera :

$$\frac{10}{V} \times N$$

et sa concentration massique :

$$\frac{10}{V} \times 36{,}5 \text{ g/L}$$

□ **Mode opératoire en présence de phénolphtaléine**

Si on utilise la phénolphtaléine comme indicateur, placer l'hydroxyde de sodium *N* dans la burette. Introduire dans une fiole conique 10 mL de solution d'acide à titrer, 1 à 2 gouttes de phénolphtaléine et 10 mL d'eau permutée. Porter à ébullition puis verser l'hydroxyde de sodium *N* jusqu'à apparition d'une coloration rose persistante.

□ **Calculs**

Si *V* est le volume d'hydroxyde de sodium *N* versé pour une prise d'essai de 10 mL d'acide, le titre sera :

$$\frac{V}{10} \times N$$

et sa concentration massique :

$$\frac{V}{10} \times 36{,}5 \text{ g/L}$$

■ Acide sulfurique/hydroxyde de sodium

☐ Principe

L'hydroxyde de sodium est neutralisé par l'acide sulfurique suivant la réaction :

$$2\ NaOH + H_2SO_4 \rightarrow Na_2SO_4 + 2\ H_2O$$

La fin de la réaction est indiquée par le virage d'un indicateur coloré du *p*H.

☐ Réactifs

– Solution d'acide sulfurique N.

– Solution aqueuse d'hélianthine à 0,2 % ou solution alcoolique de phénolphtaléine à 2 %.

☐ Mode opératoire

Placer dans la burette l'acide sulfurique N et verser dans un bécher 10 mL de solution d'hydroxyde de sodium à doser et 1 goutte d'hélianthine. Verser l'acide jusqu'au virage au rose. En présence de phénolphtaléine, l'œil étant plus sensible à l'apparition d'une couleur qu'à sa disparition, il est préférable d'utiliser la méthode indirecte suivante.

Mettre la solution à doser dans la burette et verser dans le bécher 10 mL d'acide sulfurique *N*. Ajouter 20 mL d'eau permutée bouillie, 1 à 2 gouttes de phénolphtaléine et porter à l'ébullition. Verser la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à coloration rose persistante.

☐ Calculs

Soit *V* le volume d'acide *N* versé pour une prise d'essai de 10 mL de solution à titrer. La teneur en hydroxyde de sodium exprimée en grammes par litre et en moles par litre sera :

$$[NaOH]\ g/L = \frac{V}{10} \times 40$$

$$[NaOH]\ mol/L = \frac{V}{10}$$

3.1.4 Constantes d'acidité des couples acides/bases usuels

Les constantes à 25 °C de quelques couples acides/bases sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Acide	Base conjuguée	pK
Acide sulfurique H_2SO_4	HSO_4^-/SO_4^{2-}	1,9
Acide oxalique $H_2C_2O_4$	$HC_2O_4^-$ $C_2O_4^{2-}$	1,2 4,1
Acide orthophosphorique H_3PO_4	$H_2PO_4^-$ HPO_4^{2-} PO_4^{3-}	2,2 7,2 12,0

Acide	Base conjuguée	pK
Acide acétique CH_3COOH	CH_3COO^-	4,8
Acide borique H_3BO_3	$H_2BO_3^-$ HBO_3^{2-} BO_3^{3-}	9,1 12,7 13,8
Acide hypochloreux HClO	ClO^-	7,3
Acide hypobromeux HBrO	BrO^-	8,6
Acide carbonique H_2CO_3	HCO_3^- CO_3^{2-}	6,4 10,2

3.1.5 Valeurs indicatives du *p*H de quelques solutions pures

Selon leurs concentrations (exprimées ici en normalité), les solutions pures d'acides ou de bases présentent des pH d'autant plus acides ou plus basiques que leur concentration est élevée.

Composé	Normalité		
	0,01 N	0,1 N	1 N
H_2SO_4	2,1	1,2	0,3
HCl	2,0	1,1	0,1
H_3BO_3		5,2	
CH_3COOH	3,4	2,9	2,4
NaOH	12,1	13,1	14,0
NH_4OH	10,7	11,2	11,8
$NaHCO_3$		8,4	

3.2 Solutions tampon

Une solution tampon est une solution dont le pH varie faiblement : I) lorsqu'on lui ajoute une quantité modérée d'acide fort ou de base forte, II) lorsqu'il est modérément dilué.

Cette aptitude à maintenir un pH sensiblement constant, malgré l'addition de faibles quantités d'acide ou de bases représente le pouvoir tampon de la solution.

Une solution tampon peut être réalisée :

– avec un mélange équimolaire d'acide faible et de sa base conjuguée, le pH tampon de cette solution étant égal au pKa du couple acide/base considéré,

– en mélangeant n moles de base forte et 2n moles d'acide faible,

– en mélangeant n moles d'acide fort et 2n moles de base faible,

– en réalisant un mélange d'un acide et de sa base conjuguée (dont le pKa est voisin du pH tampon recherché), dans des proportions déterminées par l'équation suivante :

$$pH = pK_a + \lg \frac{[base]}{[acide]}$$

Il est souhaitable toutefois que la solution ne soit pas trop diluée pour que l'effet tampon soit effectif.

La préparation de quelques solutions tampons est décrite ci-dessous. Mais de nombreuses solutions tampon prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce.

Voir aussi les solutions tampon de référence décrites au paragraphe A.5.3 sur la détermination du pH.

Solution tampon pH 4,00 à 20 °C

Hydrogénophtalate de potassium	10,21 g ± 0,01		g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	ml

Solution tampon pH 6,88 à 20 °C

C'est une solution équimolaire (0,025 mol/L) de dihydrogénophosphate de potassium et d'hydrogénophosphate de sodium.

Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	2,402 g ± 0,001		g
Hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4)	3,549 g ± 0,001		g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	ml

Solution tampon pH 7,00 à 20 °C

Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	2,402 g ± 0,001		g
Hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4)	5,536 g ± 0,001		g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	ml

Solution tampon pH 9,00 à 20 °C

Acide borique (H_3BO_3)	1,156 g ± 0,001		g
Potassium chlorure (KCl)	1,393 g ± 0,001		g
Solution M d'hydroxyde de sodium (NaOH)		8	mL
(ou 0,320 g ± 0,001 g d'hydroxyde de sodium)			
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	ml

Solution tampon pH 9,22 à 20 °C

Tétraborate de sodium ($Na_2B_4O_7$, 10 H_2O)	3,81 g ± 0,01		g
Eau déionisée	q.s.p.	1 000	ml

3.3 Indicateurs colorés

Un indicateur coloré correspond à l'acide faible ou la base faible d'un couple dont les formes acide et base conjuguées présentent des couleurs différentes.

Les principaux indicateurs colorés utilisés pour les réactions acido-basiques sont présentés sur le tableau suivant, indiquant l'intervalle de virage et les teintes acide et base (tableaux pages suivantes).

L'indicateur étant un acide ou une base, il convient d'en ajouter une quantité très faible, sinon le pH de la solution étudiée en serait modifié.

3.4 Dosages d'oxydo-réduction

Dans les exemples présentés ci-dessous, des concentrations arbitraires de réactifs ont été choisies. Selon les solutions à doser, les concentrations des solutions titrantes (oxydantes ou réductrices) pourront être adaptées.

3.4.1. Dosage d'une solution de permanganate de potassium à l'aide d'une solution d'acide oxalique

■ Principe

En milieu sulfurique, l'acide oxalique est oxydé par le permanganate de potassium, suivant la réaction :

$$2\ KMnO_4 + 5\ (COOH)_2 + 3\ H_2SO_4 \rightarrow 2\ MnSO_4 + K_2SO_4 + 10\ CO_2 + H_2O$$

□ **Réactifs**

– Acide sulfurique concentré (d = 1,84),

– Solution d'acide oxalique 0,1 N (0,05 M).

Utiliser de préférence une solution titrée prête à l'emploi. Le cas échéant, préparer comme suit :

Acide oxalique ($C_2O_4H_2$, $2H_2O$)		6,3 g
Eau déionisée	q.s.p.	1000 ml

Vérifier le titre de cette solution par dosage acidimétrique avec une solution 0,1 N d'hydroxyde de sodium en présence de rouge de méthyle. La solution sera chauffée à environ 60 °C avant le titrage.

■ Mode opératoire

Introduire dans une fiole conique 10 mL de solution 0,1 *N* d'acide oxalique. Ajouter 1 à 2 mL d'acide sulfurique. Chauffer à 50 ou 60 °C. Opérer à chaud pour que l'oxydation soit complète et rapide, mais ne pas dépasser 60 °C pour ne pas risquer une décomposition de l'acide oxalique.

Verser le permanganate par petites quantités jusqu'à coloration persistante.

Indicateur		Couleur dans la zone de *p*H faibles	Intervalle de virage	Couleur dans la zone de *p*H élevés
Nom usuel	**Synonyme ou nom systématique**			
Acide picrique	Trinitro-2,4,6-phénol	incolore	0-1,2	jaune
Violet de méthyle	Pentaméthyl-pararosaniline chlrorhydrate	jaune	0,1-2,0	violet
Pourpre de métacrésol	-crésolsulfonephtaléine	rouge	1,2-2,8	jaune
Bleu de thymol	Thymolsulfonephtaléine	rouge	1,2-2,8	jaune
Tropéoline O.O.	Tropaeolin OO – Orangé IV	rouge	1,3-2,6	jaune
Jaune de diméthyle	Methyl Yellow – Butter Yellow - N, N dimethyl-4 (phénylazo) aniline	rouge	2,9-4,0	jaune
Bleu de bromophénol	Tétrabromophénol sulfone phtaléine	jaune	3,0-4,6	bleu
Rouge Congo	Congo Red 4 B, Cosmos Red	bleu	3,0-5,2	rouge
Hélianthine	Méthyl-orange – orangé III – acide orange 52	rose	3,1-4,4	jaune/orangé
Alizarine sulfonate de sodium	Sodium alizarinsulfonate – alizarin carmine – alizarin red	jaune	3,7-5,2	violet
Vert de bromocrésol	Tétrabromométacrésol sulfone phtaléine – Bromocresol green	jaune	3,8-5,4	bleu
Rouge de méthyle	Acid red 2 - 2- (4-diméthylaminophénylazo) benzoic acid	rouge	4,4-6,0	jaune
Rouge de chlorophénol	Dichlorophénolsulfonephtaléine	jaune	4,6-7,0	rouge
Rouge de bromophénol	Dibromophénolsulfonephtaléine	jaune	5,2-6,8	rouge
Pourpre de bromocrésol	5, 5'-Dibromo-*o*-crésolsulfonephtaléine – Bromocresol purple	jaune	5,2-6,8	pourpre

Paranitrophénol	4-nitrophenol	incolore	5,6-7,6	jaune
Bleu de bromothymol	3', 3''-Dibromothymolsulfonephtaléine	jaune	6,0-7,6	vert/bleu
Rouge neutre	Rouge toluylène – Neutral red – Basic red 5	rouge	6,8-8,0	jaune
Rouge de phénol	Phénolsulfonephtaléine	jaune	6,8-8,4	rouge
Rouge de crésol	O-crésolsulfonephtaléine	jaune	7,2-8,8	rouge
Pourpre de métacrésol	m-crésolsulforephtaléine – m-crésol purple	jaune	7,4-9,0 (second virage)	violet
Orangé I	Tropéoline 000 – α-naphtol orange – Acid orange 74	jaune	7,6-8,9	rose
Bleu de thymol	Thylmolsulforephtaléine	jaune	8,0-9,6 (second virage)	bleu
Crésol phtaléine	O-crésolphtaléine	incolore	8,2-9,8	rouge
Phénolphtaléine	Phtaléine du phénol	incolore	8,3-10,0	rouge
Thymolphtaléine	Phtaléine du thymol	incolore	8,8-10,5	bleu
Jaune d'alizarine R	Acide 5-(4-nitrophényl-azo)-salicylique, Alizarin yellow R mordant orange I	jaune pâle	10,1-12,1	orange
Orangé II	Acid orange A – Acid orange 7	jaune	11,0-13,0	orangé
Acide orange 6	Resorcinol yellow	jaune	11,1-12,7	brun-orangé
Trinito-1,3,5 benzène		incolore	12-14	orangé
Trinitro-2,4,6 Toluène		incolore	11,5-13,0	orangé

Calculs

Soit *V* le volume de solution de permanganate versé pour une prise d'essai de 10 mL d'acide oxalique 0,1 *N*. Le titre de la solution de permanganate sera :

$$\frac{10}{V} \times 0{,}1\ N$$

Remarque

La réaction d'oxydation est catalysée par la présence de sel manganeux. Au début du titrage, opérer lentement pour laisser le temps au sulfate de manganèse de se former. La décoloration, longue à se produire au début de la réaction, devient instantanée lorsqu'on approche du virage, qui a lieu au moment où la coloration rose persiste après agitation.

3.4.2 Dosage d'une solution de permanganate de potassium à l'aide d'une solution de sulfate ferreux

Principe

En milieu sulfurique, le permanganate de potassium oxyde le sulfate ferreux à l'état de sulfate ferrique suivant la réaction :

$$10\ FeSO_4 + 8\ H_2SO_4 + 2\ KMnO_4 \rightarrow 5\ Fe_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 2\ MnSO_4 + 8\ H_2O$$

Réactifs

– Acide sulfurique concentré (d = 1,84).

– Solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium 0,1 N :

Ammonium et fer (II) sulfate [$FeSO_4\ (NH_4)_2SO_4$, 6 H_2O]		39,2 g
Acide sulfurique concentré (d = 1,84)		20 mL
Eau déionisée	q.s.p.	1 000 ml

Dissoudre 39,2 g de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté [$FeSO_4\ (NH_4)_2SO_4$, 6 H_2O] dans de l'eau déionisée. Ajouter 20 mL d'acide sulfurique concentré. Refroidir et compléter à 1 000 ml dans une fiole jaugée.

Mode opératoire

Introduire dans une fiole conique 100 mL d'eau déionisée, 10 mL d'acide sulfurique concentré et 10 mL de solution de sulfate ferreux. Verser la solution de permanganate de la burette jusqu'à coloration persistante après agitation.

Calculs

Si *V* est le volume de solution de permanganate versé pour une prise d'essai de 10 mL de solution décinormale de sulfate ferreux, le titre de la solution permanganate sera :

$$\frac{10}{V} \times 0{,}1\ N$$

3.4.3 Dosage d'une solution de thiosulfate de sodium à l'aide d'une solution de permanganate de potassium

■ Principe

En milieu sulfurique, l'iodure de potassium est oxydé par le permanganate d'après la réaction suivante :

$$5\ KI + 4\ H_2SO_4 + KMnO_4 \rightarrow 3\ K_2SO_4 + MnSO_4 + 4\ H_2O + \frac{5}{2}\ I_2$$

l'iode libéré est utilisé pour doser le thiosulfate de sodium.

□ **Réactifs**

– Solution de permanganate de potassium 0,1 *N*.

– Solution à 10 % d'iodure de potassium. L'iodure peut être souillé d'iodate de potassium qui réagit en milieu acide sur l'iodure pour donner de l'iode libre. Il faut donc s'assurer de l'absence d'iodate en ajoutant à un échantillon de la solution aqueuse préparée quelques gouttes d'acide sulfurique dilué au 1/2. Aucune coloration jaune ne doit se produire.

– Acide sulfurique concentré (d = 1,84).

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L ou autre indicateur d'iode.

■ Mode opératoire

Placer dans la burette la solution de thiosulfate de sodium à titrer. Introduire dans une fiole conique 10 mL de solution d'iodure de potassium ayant satisfait à l'épreuve de pureté, acidifier avec environ 1 mL d'acide sulfurique. Ajouter 10 mL exactement de permanganate 0,1 *N*. Verser le thiosulfate jusqu'à coloration jaune très pâle. Ajouter alors quelques gouttes de solution d'amidon et continuer le dosage jusqu'à décoloration complète.

■ Calculs

Soit *V* le volume de solution de thiosulfate versé pour une prise d'essai de 10 mL de permanganate 0,1 *N*. Le titre de la solution de thiosullfate sera :

$$\frac{10}{V} \times 0{,}1\ N$$

3.4.4 Dosage d'une solution de dichromate de potassium à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium

■ Principe

Le dichromate de potassium en milieu acide oxyde l'iodure de potassium suivant la réaction :

$$K_2Cr_2O_7 + 6\ KI + 7\ H_2SO_4 \rightarrow Cr_2(SO_4)_3 + 4\ K_2SO_4 + 7\ H_2O + 3\ I_2$$

L'iode libéré est titré par une solution décinormale de thiosulfate de sodium.

□ **Réactifs**

– Solution de thiosulfate de sodium 0,1 *N*.

– Solution d'iodure de potassium à 10 % exempte d'iode libre et d'iodate.

– Acide sulfurique concentré (d = 1,84).

– Solution d'amidon soluble à 10 g/L ou autre indicateur d'iode.

Mode opératoire

Placer la solution de thiosulfate de sodium dans la burette. Introduire 10 mL de solution de dichromate dans une fiole conique. Ajouter successivement 5 à 10 mL de solution d'iodure de potassium à 10 %, 1 mL d'acide sulfurique et 100 mL d'eau déionisée. Verser le thiosulfate de sodium jusqu'à teinte jaune verdâtre. Ajouter alors 2 mL de solution d'amidon et continuer le dosage jusqu'à teinte vert clair.

Calculs

Si *V* est le volume de thiosulfate de sodium 0,1 *N* versé pour une prise d'essai de 10 mL, le titre de la solution de dichromate sera :

$$\frac{V}{10} \times 0{,}1\ N$$

Remarque

La fin de la réaction n'est pas indiquée par la décoloration complète du liquide en raison de la présence de sel de chrome Cr^{3+} dans la solution. Le virage est cependant assez net à condition d'opérer en solution suffisamment diluée.

3.4.5 Dosage d'une solution arsénieuse à l'aide d'une solution d'iode

Principe

En solution, rendue alcaline par addition d'hydrogénocarbonate de sodium soluble, l'anhydride arsénieux est oxydé par l'iode à l'état d'anhydride arsénique d'après la réaction :

$$2\ I_2 + 2\ H_2O + As_2O_3 \leftrightarrows As_2O_5 + 4\ HI$$

Cette réaction est réversible. Pour qu'elle soit quantitative de gauche à droite il faut neutraliser l'acide iodhydrique au fur et à mesure de sa formation par les alcalins libres ou les carbonates neutres qui fixent l'iode. C'est pourquoi on utilise de l'hydrogénocarbonate de sodium ou de potassium qu'on ajoute en excès au moment de la préparation de la solution titrée arsénieuse.

Réactifs

- Solution d'amidon soluble à 10 g/L ou autre indicateur d'iode.
- Solution d'iode 0,1 *N*.

La solution décinormale d'iode renferme 12,7 grammes d'iode par litre. L'iode étant pratiquement insoluble dans l'eau, mais se dissolvant presque instantanément dans une solution concentrée d'iodure de potassium, introduire 25 g d'iodure de potassium exempt d'iodate dans une fiole jaugée de 1 000 mL bouchée émeri. Ajouter 50 mL d'eau permutée. Quand l'iodure est bien dissous, ajouter 12,7 g d'iode bisublimé. Agiter jusqu'à dissolution complète. Ajouter alors de l'eau déionisée jusqu'au trait de jauge. Cette solution se conserve plusieurs mois en flacon brun, bouché émeri, à l'abri de la lumière et de la chaleur. L'iode se volatilisant, avant l'emploi du flacon, bien agiter la solution afin de redissoudre l'iode qui a pu se déposer sur la partie supérieure.

Mode opératoire

Placer la solution arsénieuse dans la burette. Introduire 10 mL de solution d'iode 0,1 *N* dans une fiole conique. Verser l'anhydride arsénieux jusqu'à coloration jaune très pâle. Ajouter alors quelques gouttes de solution d'amidon et continuer le dosage jusqu'à décoloration complète.

Calculs

Si *V* est le volume de solution arsénieuse versé pour une prise d'essai de 10 mL d'iode 0,1 *N*, le titre de la solution d'anhydride arsénieux sera :

$$\frac{10}{V} \times 0{,}1\ N$$

3.5 Mélanges réfrigérants

Constituants	Masse du constituant (g)	Masse d'eau (g)	Température obtenue (°C)
Nitrate d'ammonium	100	94	– 4
Chlorure de calcium ($CaCl_2$, 6 H_2O)	100	246 (glace)	– 9
Nitrate d'ammonium	45	100 (glace)	– 16,8
Chlorure de sodium	33	100 (glace)	– 21,3
Chlorure de calcium ($CaCl_2$, 6 H_2O)	100	81 (glace)	– 40,3
Bromure de sodium	66	100 (glace)	– 28
Alcool à 4 °C + neige carbonique			– 72
Éther + neige carbonique			– 100

3.6 Caractéristiques de quelques eaux minérales françaises

(Tableau page suivante)

	Vichy St-Yorre	Vichy Célestins	St-Galmier Badoit	Contrex Pavillon	Vittel Hépar	Vittel Grande Source	Évian Cachat	Vergèze Perrier (*)	Volvic Clairvic (*)
Résistivité en Ω . cm 20 °C	169	232	664	517	503	1 122	2 028	1 583	7 793
Degré hydrotimétrique (TH en °f)	28,1	26,4	73,2	154,5	184	62,8	28,3	37,7	4,68
Résidu sec à 180 °C en g/L	4,468	3,488	1,125	2,118	2,337	0,768	0,307	0,447	0,102
Ca (mg/L)	97,5	90,7	163,7	481,3	555	195,8	76,5	145,3	9,4
Mg (mg/L)	9,2	9,2	78,8	83,8	110,8	33,8	22,3	3,5	5,6
K (mg/L)	106,5	65,2	14,5	3,5	4,05	2,1	1	1,1	5,1
Na (mg/L)	1 660	1278	138	6,3	12,5	2,7	5,2	13,8	8,2
Fe (mg/L)	0,20	0,110	0,010	0,010	0,02	0,09	0,005	0,07	0,022
Mn (mg/L)	< 0,01	0,14	0,83	0,005	0,007	0	0,001	0	0
SO_4 (mg/L)	165	131	50,5	1 200	1 424	304	10,3	51,1	5,8
NO_3 (mg/L)	< 0,5	0,5	15,5	2,8	3,6	6,8	3,1	13,1	3
Cl (mg/L)	308,5	227	64	6,2	9,5	7	2,4	30,9	8,7
F (mg/L)	8,5	6	1,27	0,3	0,31	0,24	0,07	0,06	0
HCO_3 (mg/L)	4 184,6	3 281,8	1 105,9	378,2	394,7	408,7	345,3	336,7	63,4

Références : Laboratoire national de la Santé.
(*) Analyses d'autorisation publiées au Bulletin de l'Académie nationale de médecine.

Bibliographie

M. Dore (1989). Chimie des oxydants et traitement des eaux. Editions Technique et Documentation – Lavoisier. Paris.

M.O. Delcourt, N. Bois, F. Chouaib (2000). Equilibres chimiques en solution. De Boeck Université.

J. Tonneau (2000). Tables de chimie : un mémento pour le laboratoire. De Boeck Université.

J.C. Labbe, J. Mexmain (2001). Traité général de chimie : chimie des solutions aqueuses – électrochimie. Ellipses.

Degremont (2005). Mémento technique de l'eau. Degrémont/Suez. 10e édition.

M. Beljean-Leymarie, J.-P. Dubost, M. Galliot-Guilley (2006). Chimie analytique : chimie des solutions. MASSON.

J.L. Burgot (2006). Chimie analytique et équilibres ioniques. Editions Tec et Doc – EM Inter – Lavoisier.

E. Bardez (2008). Mini-manuel de chimie générale : Chimie des solutions. DUNOD.

4.1 Termes et unités radiologiques utilisés

Terme	Définition	Unité	Valeur
Activité (A)	Quotient de dN par dt où dN est le nombre de transformations nucléaires spontanées qui se produisent dans une quantité de radionucléide pendant le temps dt $$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda N$$	Becquerel (Bq) : unité SI d'activité qui correspond à une désintégration par seconde. L'ancienne unité était le curie (Ci).	1 Bq = 1 s^{-1} 1 Ci = 3,7 . 10^{10} Bq 1 Bq = 2,7027 . 10^{-11} Ci
Dose absorbée (D)	Quotient de dε par dm où dε est l'énergie moyenne communiquée par les rayonnements ionisants à la matière dans un élément de volume et dm, la masse de matière contenue dans cet élément de volume $$D = \frac{d\varepsilon}{dm}$$	Gray (Gy) : unité SI de dose absorbée. Le gray a remplacé le rad en 1986.	1 Gy = 1 J/kg 1 rd = 10^{-2} Gy 1 Gy = 100 rd
Équivalent de dose (H)	Produit de la dose absorbée D par le facteur de qualité Q et par le produit de tous les autres facteurs modificatifs N. Pour l'irradiation externe par les rayonnements X, γ et des électrons β, le facteur de qualité est égal à 1 $$H = Q \times N$$	Sievert (Sv) : unité SI d'équivalent de dose. Le rem (rad equivalent men) est l'ancienne unité de dose équivalente.	1 Sv = 1 J/kg 1 rem = 10^{-2} Sv 1 Sv = 100 rem

4.2 Table de conversion Curies-Becquerels

Passage des curies aux becquerels	Passage des becquerels aux curies
1 kCi = 37 TBq	1 TBq = 27 Ci
1 Ci = 37 GBq	1 GBq = 27 mCi
1 mCi = 37 MBq	1 MBq = 27 µCi
1 µCi = 37 kBq	1 kBq = 27 nCi
1 nCi = 37 Bq	1 Bq = 27 pCi
1 pCi = 37 mBq	1 mBq = 27 fCi
Pour l'activité volumique (activité rapportée au volume de l'échantillon):	
1 pCi/L = 0,037 Bq/L	1 Bq/L = 27 pCi/L

4.3 Période radioactive et équivalence de masse des principaux radionucléides

Radionucléides	Période radioactive	Nombre de becquerels pour 1 gramme	Masse équivalente en gramme à 1 Curie
Antimoine 125	2,73 ans	$3,88 \cdot 10^{13}$	$9,54 \cdot 10^{-4}$
Argon 41	1,83 h	$1,55 \cdot 10^{18}$	$2,39 \cdot 10^{-8}$
Baryum 140	12,8 j	$2,70 \cdot 10^{15}$	$1,37 \cdot 10^{-5}$
Brome 82	1,47 j (35,4 h)	$3,28 \cdot 10^{18}$	$1,13 \cdot 10^{-8}$
Carbone 14	5 733,9 ans	$1,65 \cdot 10^{11}$	0,224
Cérium 141	32,5 j	$1,05 \cdot 10^{15}$	$3,51 \cdot 10^{-5}$
Cérium 144	285 j	$1,18 \cdot 10^{14}$	$3,14 \cdot 10^{-4}$
Césium 137	30,15 ans	$3,20 \cdot 10^{12}$	$1,16 \cdot 10^{-2}$
Césium 134	2,07 ans	$4,78 \cdot 10^{13}$	$7,74 \cdot 10^{-4}$
Cobalt 60	5,271 ans	$4,18 \cdot 10^{13}$	$8,85 \cdot 10^{-4}$
Fer 59	44,5 j	$1,84 \cdot 10^{15}$	$2,01 \cdot 10^{-5}$

Radionucléides	Masse équivalente en gramme à 1 Curie	Nombre de becquerels pour 1 gramme	Période radioactive
Iode 131	8,04 j	$4,60 . 10^{15}$	$8,05 . 10^{-6}$
Iridium 192	73,8 j	$3,41 . 10^{14}$	$1,09 . 10^{-4}$
Krypton 85	10,7 ans	$1,45 . 10^{13}$	$2,55 . 10^{-3}$
Mercure 203	46,6 j	$5,11 . 10^{14}$	$7,24 . 10^{-5}$
Phosphore 32	14,3 j	$1,06 . 10^{16}$	$3,50 . 10^{-6}$
Plutonium 239	24 130 ans	$2,30 . 10^{9}$	16,1
Potassium 40	$1,29 . 10^{9}$ ans	$2,56 . 10^{5}$	$1,44 . 10^{5}$
Radium 226	1 600 ans	$3,66 . 10^{10}$	1,01
Ruthénium 103	39,3 j	$1,20 . 10^{15}$	$3,10 . 10^{-5}$
Ruthénium 106	373 j	$1,22 . 10^{14}$	$3,03 . 10^{-4}$
Sélénium 75	120 j	$5,38 . 10^{14}$	$6,88 . 10^{-5}$
Sodium 24	15,0 h	$3,23 . 10^{17}$	$1,15 . 10^{-7}$
Soufre 35	87,4 j	$1,58 . 10^{15}$	$2,34 . 10^{-5}$
Strontium 89	50,5 j	$1,08 . 10^{15}$	$3,45 . 10^{-5}$
Strontium 90	29,14 ans	$5,05 . 10^{12}$	$7,09 . 10^{-3}$
Thorium 228	1,91 ans	$3,03 . 10^{13}$	$1,22 . 10^{-3}$
Thorium 232	$1,41 . 10^{10}$ ans	$4,06 . 10^{3}$	$9,12 . 10^{6}$
Thorium naturel		$8,12 . 10^{3}$	$4,56 . 10^{6}$
Tritium	12,34 ans	$3,57 . 10^{14}$	$1,04 . 10^{-4}$
Uranium 235	$7,13 . 10^{8}$ ans	$8,00 . 10^{4}$	$4,63 . 10^{5}$
Uranium 238	$4,47 . 10^{9}$ ans	$1,24 . 10^{4}$	$2,98 . 10^{6}$
Uranium naturel		$2,53 . 10^{4}$	$1,46 . 10^{6}$
Zinc 65	244 j	$3,05 . 10^{14}$	$1,21 . 10^{-4}$
Zirconium 95	64,0 j	$7,95 . 10^{14}$	$4,66 . 10^{-5}$

On peut considérer qu'il existe 4 familles à l'état naturel :

– famille de l'uranium à partir de l'uranium 238 ;

– famille du thorium à partir du thorium 232 ;

– famille de l'actinium à partir de l'uranium 235 ;

– famille du potassium à partir du potassium 40.

Cas de l'uranium

(*Voir* Uranium dans le chapitre G2 : ^{234}U, ^{235}U et ^{236}U.

L'uranium naturel est composé des trois isotopes ^{234}U, ^{235}U et ^{238}U. Le décret n° 86-1103 du 2 octobre 1986 définit que 1 becquerel d'uranium naturel correspond à une désintégration α par seconde (0,489 dps de ^{238}U + 0,489 dps de ^{234}U + 0,022 dps de ^{235}U) ou 1 curie à $3,7 . 10^{10}$ désintégrations α par seconde ($1,81 . 10^{10}$ dps de ^{228}U + $1,81 . 10^{10}$ dps de ^{234}U + $8,31 . 10^{8}$ dps de ^{235}U).

L'équivalence de 1 g d'uranium naturel à l'équilibre est de (fiche radionucléide : Uranium naturel et environnement. IRSN, 14/05/01) :

^{238}U	12 346 Bq
^{235}U	575 Bq
^{234}U	13 110 Bq

Cas du thorium

(*Voir* Thorium dans le chapitre G.2.)

Le thorium naturel comporte le ^{232}Th et, en équilibre radioactif le ^{228}Th. Le décret 86-1103 du 2 octobre 1986 définit qu'un becquerel de thorium naturel correspond à une désintégration α par seconde (0,5 dps de ^{232}Th + 0,5 dps de ^{238}Th) ou un curie correspond à $3,7 . 10^{10}$ désintégrations α par seconde ($1,85 . 10^{10}$ dps de ^{232}Th + $1,85 . 10^{10}$ dps de ^{228}Th).

L'équivalence de 1 g de thorium naturel à l'équilibre est de 8 120 Bq soit $4,56 . 10^{6}$ g pour 1 Ci.

Cas de l'actinium

(*Voir* Uranium.)

L'uranium 235 représente en masse 0,72 % de l'uranium naturel à l'équilibre.

Cas du potassium

(*Voir* Potassium dans le chapitre G.2.)

Le ^{40}K a une teneur pondérale de 0,0118 % ; on en déduit que 1 g de potassium naturel correspond à 31 Bq soit $1,2 . 10^{9}$ g pour 1 Ci.

4.4 Radioexposition moyenne annuelle de l'homme, naturelle et artificielle

Sources de radioexposition	Équivalent de dose efficace annuel moyen (µSv)			
	Radio-exposition externe	Radio-exposition interne	Total	Exposition moyenne annuelle (%)
Origine naturelle	**800**	**1 600**	**2 400**	**67,4**
dont :				
Rayons cosmiques	355		355	10
Radioéléments d'origine cosmique		15	15	0,4
Famille de l'uranium 238 (radon 222)	100	1 240	1 340	37,6
Famille du thorium 232 (radon 220)	160	180	340	9,6
Radioéléments naturels hors famille :				
Potassium 40	150	180	330	9,3
Rubidium 87		6	6	0,2
Origine artificielle				
dont :			**1 160**	**32,6**
Médecine (pays développés)				
Radiologie			1 000	28,1
Médecine nucléaire			100	2,8
Radiologie dentaire			37	1,0
Radiothérapie			0,01	0,000
Industrie électronucléaire			0,1	0,003
Explosions nucléaires expérimentales			20	0,6
Radioexposition moyenne annuelle			**3 560 µSv**	

(Source UNSCEAR 1988 – Comité scientifique des Nations Unies pour l'étude des rayonnements ionisants.)
(Source UNSCEAR 2000 – Report Vol. 1)

4.5 Limites de doses pour les travailleurs exposés et pour les personnes du public

L'article 9 du chapitre 2 de la Directive 96/29/Euratom du Conseil du 13 mai 1996 fixant les normes de base relatives à la protection sanitaire de la population et des travailleurs contre les dangers résultant des rayonnements ionisants, indique les limites de dose pour les travailleurs exposés. La dose efficace pour les travailleurs exposés est limitée à 100 mSv sur cinq années consécutives, à condition que la dose efficace ne dépasse pas 50 mSv au cours d'une année quelconque. Les États membres peuvent fixer une dose annuelle.

L'article 13 du même chapitre 2 donne les limites de dose pour les personnes du public. La limite de dose efficace est de 1 mSv par an. Toutefois, dans des circonstances particulières, une valeur supérieure peut être autorisée pendant une année quelconque et pour autant que la moyenne sur cinq années consécutives ne dépasse pas 1 mSv par an.

La partie de cette directive concernant les personnes du public a été transposée dans le droit français par l'article R. 43-4-I. du décret n° 2002-460 du 4 avril 2002 relatif à la protection générale des personnes contre les dangers des rayonnements ionisants : « La somme des doses efficaces reçues par toute personne n'appartenant pas aux catégories mentionnées au II du présent article, du fait des activités nucléaires, ne doit pas dépasser 1 mSv par an. Sans préjudice de la limite définie pour les doses efficaces, les limites de dose équivalente admissibles sont fixées, pour le cristallin, à 15 mSv par an et, pour la peau, à 50 mSv par an en valeur moyenne pour toute surface de 1 cm2 de peau, quelle que soit la surface exposée. ».

4.6 Niveaux maximaux admissibles de contamination radioactive pour les denrées alimentaires et les aliments pour bétail

	Niveaux maximaux admissibles (Bq. kg^{-1})				
	Aliments pour le nourrisson	Produits laitiers	Autres denrées alimentaires	Liquides destinés à la consommation	Aliments pour bétail prêts à la consommation
Isotopes du strontium, notamment ^{90}Sr (1) (2)	75	125	750	125	
Isotopes d'iode, notamment ^{131}I (1) (3)	150	500	2000	500	
Isotopes du plutonium et des éléments transplutoniens à émissions alpha, notamment ^{239}Pu et ^{241}Am (1) (4) (5)	1	20	80	20	
Tout autre nucléide à période radioactive supérieure à 10 jours, notamment ^{134}Cs et ^{137}Cs (1) (6)	400	1000	1250	1000	1250 (porc) 2500 (volaille, agneau, veau) 5000 (autres)

(1) Règlement (Euratom) n° 3954/87 du Conseil du 22 décembre 1987 fixant les niveaux maximaux admissibles de contamination radioactive pour les denrées alimentaires et les aliments pour bétail après un accident nucléaire ou dans toute autre situation d'urgence radiologique.
Règlement (Euratom) n° 2218/89 du Conseil du 18 juillet 1989 modifiant le règlement (Euratom) n° 3954/87.
Règlement (Euratom) n° 770/90 de la Commission, du 29 mars 1990, fixant les niveaux maximaux admissibles de contamination radioactive pour les aliments pour bétail après un accident nucléaire ou dans toute autre situation d'urgence radiologique.
(2) Fiche radionucléide IPSN Strontium 90 + Yttrium 90. Aspects sanitaires. 01/08/2001.
(3) Fiche radionucléide IPSN Iode 131. Aspects sanitaires. 01/08/2001.
(4) Fiche radionucléide IRSN Plutonium. Aspects sanitaires. Rapport SDI/2007-031.
(5) Une révision des limites indicatives de 1 Bq. kg-1 pour les aliments pour nourrissons et de 10 Bq. kg-1 pour les autres aliments a été proposée (Rapport ALINORM 06/29/12, Mai 2006. Commission du Codex Alimentarius).
(6) Fiche radionucléide IPSN Césium 137 + Baryum 137 m. Aspects sanitaires. 01/08/2001.

5 • UTILISATION DES STATISTIQUES DANS L'ANALYSE HYDROLOGIQUE

Tout analyste doit avoir pour objectif d'obtenir un résultat qui soit une estimation correcte de la concentration moyenne réelle du produit analysé dans le milieu contrôlé. Malheureusement, les différentes opérations qui permettent d'obtenir ce résultat peuvent introduire des erreurs qu'il importe de déceler afin de pouvoir les supprimer ou les réduire.

D'une façon générale, il est possible de distinguer deux types d'erreurs : les erreurs aléatoires et les erreurs systématiques. Les unes et les autres peuvent être dues soit à la méthode analytique, soit à la méthode d'échantillonnage. Pour déceler ces erreurs et pour améliorer la précision des résultats analytiques, l'emploi des méthodes statistiques est nécessaire.

5.1 Notions élémentaires de statistiques

Par population, on désigne un ensemble de valeurs x, fréquemment en nombre infini, qui sont réparties suivant une certaine loi de probabilité définie par deux paramètres, la moyenne m et la variance σ^2 qui caractérise la dispersion des valeurs individuelles autour de la moyenne. σ, racine carrée de la variance est l'écart-type de la population.

Il n'est pas possible de connaître toutes les valeurs x composant une population mais on peut par contre en déterminer un certain nombre n qui constitue un échantillon statistique. Ces n résultats peuvent être résumés par deux valeurs caractéristiques qui sont :

– La moyenne :

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$$

– La variance $s^2(x)$ qui se définit à l'aide de la formule :

$$s^2(x) = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n - 1}$$

et se calcule à l'aide d'une des deux formules suivantes :

$$s^2(x) = \frac{\Sigma x^2 - n\bar{x}^2}{n - 1}$$

ou

$$s^2(x) = \frac{\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2/n}{n - 1} = \frac{n\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}{n(n - 1)}$$

$\bar{x}$ et $s^2(x)$ sont des estimations des valeurs m et $\sigma^2(x)$ inconnues. Elles sont elles-mêmes distribuées suivant une loi de probabilité. En particulier, les moyennes $\bar{x}$ de k échantillons statistiques de n valeurs ont une distribution de moyenne m et de variance $\frac{\sigma^2}{n}$, valeurs qui peuvent être estimées respectivement par :

$$x = \frac{\Sigma \bar{x}}{k}$$

et

$$s^2(\bar{x}) = \frac{s^2(x)}{n}$$

Par exemple, les résultats analytiques qui pourraient être obtenus en répétant un nombre infini de fois et dans des conditions identiques la même analyse sur le même échantillon constituent une population.

Tous ces résultats ne sont pas égaux entre eux mais ils sont plus ou moins groupés autour d'une valeur moyenne. Il en est de même des concentrations réelles en calcium des échantillons de 1 litre d'eau prélevés dans une rivière.

Le calcul des valeurs de $\bar{x}$ et de $s(x)$ permet de définir un intervalle de confiance dont les limites sont :

$$\bar{x} - t_\alpha(\nu)\,\frac{s(x)}{\sqrt{n}} \quad \text{et} \quad \bar{x} + t_\alpha(\nu)\,\frac{s(x)}{\sqrt{n}}$$

et à l'intérieur duquel la vraie valeur m de la grandeur mesurée a une probabilité égale à $(1 - \alpha)$ de se trouver. $t_\alpha(\nu)$ est un coefficient donné par la table de Student pour le nombre de degrés de liberté $\nu = n - 1$ et pour la probabilité α. Celle-ci est généralement choisie égale à 0,05 ou 0,10.

L'expression $t_\alpha(\nu)\,\frac{s(x)}{\sqrt{n}}$ caractérise l'incertitude avec laquelle la moyenne expérimentale de $\bar{x}$ permet de connaître la vraie moyenne m de la population P. Cette incertitude, proportionnelle à $s(x)$, est donc d'autant plus grande que la dispersion des résultats analytiques est plus élevée. Elle diminue lorsque le nombre n de résultats augmente.

5.2 Choix d'une méthode analytique

■ Erreurs systématiques

La « justesse » d'une méthode définit « l'exactitude » des résultats qu'elle permet d'obtenir, c'est-à-dire la concordance entre la valeur vraie de la grandeur cherchée et la valeur expérimentale obtenue en employant cette méthode.

L'erreur qui résulte du manque de justesse d'une méthode est une erreur systématique ; elle affecte de façon identique tous les résultats obtenus dans les mêmes conditions. Cette erreur systématique peut en général être déterminée en grandeur et en signe. Elle peut donc être annulée par un terme correctif.

Diverses causes peuvent être à l'origine d'erreurs de cette espèce. Elles sont généralement introduites au cours des différentes opérations de préparation et de mesure des échantillons. Elles peuvent par exemple être dues à un mauvais réglage de zéro de l'appareil de mesure, à l'utilisation d'un réactif n'ayant pas la composition voulue, à la perte en cours d'analyse d'une certaine fraction de l'élément analysé.

Évaluation de l'erreur systématique

Toute méthode analytique devra, avant d'être utilisée, faire l'objet d'un étalonnage ou d'un essai à blanc afin de vérifier si les résultats qu'elle permet d'obtenir sont affectés d'une erreur systématique. Ce contrôle sera réalisé en effectuant n dosages sur une solution de concentration C connue. À partir des n résultats x ainsi obtenus on calcule ensuite :

– la moyenne $\bar{x} = \dfrac{\Sigma x}{n}$

– l'écart-type $s(x) = \sqrt{\dfrac{\Sigma(x^2 - n\bar{x}^2)}{n-1}}$

– l'écart-type de la moyenne $s(\bar{x}) = \dfrac{s(x)}{\sqrt{n}}$

Soit $d = C - \bar{x}$ l'écart entre la concentration réelle du produit analysé et la moyenne des n résultats d'analyse. Le quotient $d/s(\bar{x})$ doit être comparé à la valeur $t_\alpha(\nu)$ donnée par la table de Student pour la probabilité α choisie et pour $\nu = n - 1$ degrés de liberté.

Si :
$$\frac{|d|}{s(\bar{x})} < t_\alpha(\nu)$$

on peut conclure que les résultats fournis par la méthode utilisée ne diffèrent pas systématiquement de la vraie valeur mesurée.

Si :
$$\frac{|d|}{s(\bar{x})} > t_\alpha(\nu)$$

la différence $C - \bar{x}$ est alors significative d'une erreur systématique introduite par la méthode utilisée. Les résultats fournis par cette méthode devront donc être corrigés, le terme correctif étant égal à $d = C - \bar{x}$.

Exemple

Dans le but d'étudier la justesse de la méthode de dosage du plomb dans les eaux, un essai a été réalisé en effectuant 9 mesures à partir d'une solution certifiée contenant 100 µg/L de Pb^{++}.

À partir des 9 résultats ainsi obtenus, les valeurs suivantes ont été calculées :

$\bar{x}$ = 98,6 µg/L,

$s(x)$ = 1,2 µg/L,

$s(\bar{x})$ = 0,4 µg/L,

d = 1,4 µg/L,

$$\frac{|d|}{s(\bar{x})} = 3{,}500.$$

Pour la probabilité $\alpha = 0{,}10$ et pour $\nu = 8$ degrés de liberté, la table de Student donne :

$$t_{0,10}(8) = 1{,}860$$

Cette valeur étant inférieure à celle du quotient $\frac{|d|}{s(\bar{x})}$ l'écart entre la moyenne des 9 résultats expérimentaux et la concentration réelle doit être considérée comme significative d'une erreur systématique. Les résultats fournis par cette méthode devront donc être corrigés : le terme de correction est égal à + 1,4 µg/L.

Erreurs aléatoires

La « fidélité » d'une méthode analytique définit la « reproductibilité » des résultats qu'elle permet d'obtenir, c'est-à-dire leur concordance par rapport à une valeur moyenne. Cette reproductibilité est liée à la dispersion que présentent les résultats obtenus dans les mêmes conditions.

Tous les analystes ont pu constater que si on recommence la même analyse sur des échantillons prélevés dans les mêmes conditions, les résultats obtenus ne sont généralement pas tous égaux entre eux, mais présentent une certaine dispersion autour d'une valeur moyenne. L'écart que peut présenter chacun de ces résultats par rapport à la valeur réelle de la grandeur mesurée a donc un caractère aléatoire. Il n'est pas possible de connaître *a priori* la grandeur et le signe de cet écart, mais on peut déterminer la probabilité pour qu'il ait une valeur donnée.

Les écarts de caractère aléatoire résultent de variations accidentelles provoquées par des facteurs négligés ou insuffisamment contrôlés. Ces variations pourront par exemple affecter la quantité de réactif, la température d'évaporation, le *p*H de l'échantillon. Elles pourront également être introduites par l'opérateur ou par les caractéristiques de l'appareil de mesure. Elles pourront enfin être relatives aux opérations d'échantillonnage par suite du manque d'homogénéité du milieu contrôlé.

Un cas particulier doit être fait de la sensibilité de la méthode. Cette sensibilité correspond en principe à la plus petite variation décelable X de la grandeur mesurée pour avoir deux résultats significativement différents. La précision d'une méthode sera déterminée par sa sensibilité lorsque les erreurs introduites par celle-ci sont supérieures aux autres erreurs aléatoires. Dans le cas contraire, il n'y aura pas lieu de la considérer séparément.

Détermination pratique de l'erreur aléatoire et du nombre de mesures à effectuer

L'erreur aléatoire est désignée par $V_\alpha(x)$ lorsqu'elle est relative au résultat x d'une seule mesure et par $V_\alpha(\bar{x})$ lorsqu'elle est relative à la moyenne $\bar{x}$ de n résultats. C'est par définition, une valeur telle que l'écart réel entre un

résultat expérimental x ou $\bar{x}$ et la vraie valeur de la grandeur mesurée ait une probabilité connue de lui être supérieur. Cette probabilité désignée par α est généralement choisie égale à 0,05. Cette erreur aléatoire se calcule donc à l'aide de la formule :

$$V_\alpha(\bar{x}) = t_\alpha \frac{s(x)}{\sqrt{n}} = t_\alpha \,.\, s(\bar{x})$$

Cette formule montre que l'erreur V_α peut être rendue plus faible, soit en diminuant $s(\bar{x})$ (choix d'une méthode analytique plus fidèle), soit en augmentant le nombre de mesures.

La valeur de $s(x)$ étant connue, il est donc possible pour n donné de calculer $V_\alpha(\bar{x})$ et inversement de déterminer le nombre de mesures à effectuer pour obtenir une précision donnée.

Pour les contrôles routiniers ou les contrôles qui devront être répétés plusieurs fois, $s^2(x)$ pourra être déterminé au cours d'un contrôle préliminaire qui devra comprendre un nombre suffisamment élevé de mesures. À partir de cette valeur $s^2(x)$, le nombre n de mesures à effectuer lors des contrôles routiniers sera donné par la relation :

$$n = \frac{t_\alpha^2 s^2(x)}{V_\alpha^2(\bar{x})}$$

pour le niveau de confiance $(1 - \alpha)$ choisi.

Si $s^2(x)$ n'a pas fait l'objet d'une détermination préalable, ce qui sera le cas dans les contrôles isolés, n devra être fixé arbitrairement égal à n_1. La précision correspondante sera alors déterminée par la formule :

$$V_{1\alpha} = t_\alpha \sqrt{\frac{s_1^2(x)}{n_1}}$$

Si celle-ci est insuffisante, il sera alors nécessaire d'effectuer n_2 mesures supplémentaires. Si V_a est la précision souhaitée, n_2 sera déterminée par la formule :

$$n_1 + n_2 = N = \frac{t_\alpha^2 s_1^2(x)}{V_a^2}$$

dans laquelle $s_1^2(x)$ est la variance déterminée à partir des n_1 premières mesures.

■ Comparaison de la fidélité de deux méthodes

Lorsque l'analyste a le choix entre deux méthodes analytiques M_a et M_b pour doser un élément, il peut effectuer un contrôle afin de déterminer quelle est la plus fidèle. Le mode opératoire est le suivant :

– à partir d'un échantillon d'eau, n_a mesures sont effectuées en utilisant la méthode M_a.

Les résultats x_a obtenus permettent de calculer :

$$\bar{x}_a = \frac{\Sigma x_a}{n_a}$$

$$s^2(x_a) = \frac{\Sigma x_a^2 - n_a \bar{x}_a^2}{n_a - 1}$$

– le même échantillon d'eau donne lieu à n_b dosages effectués avec la méthode M_b. Les résultats x_b ainsi obtenus permettent de calculer :

$$\bar{x}_b = \frac{\Sigma x_b}{n_b}$$

$$s^2(x_b) = \frac{\Sigma x_b^2 - n_b \bar{x}_b^2}{n_b - 1}$$

– le quotient :

$$F_{\text{exp}} = \frac{s^2(x_b)}{s^2(x_a)} \quad \text{ou} \quad F_{\text{exp}} = \frac{s^2(x_a)}{s^2(x_b)}$$

obtenu en mettant au numérateur la variance la plus élevée est ensuite comparé à la valeur $F_\alpha(\nu_1, \nu_2)$ donnée par la table de Snédécor pour la probabilité $\alpha = 0{,}05$ et pour les degrés de liberté $n_a - 1$ et $n_b - 1$, ν_1 étant le nombre de degrés de liberté correspondant à la variance la plus élevée.

Si $F_{\text{exp}} < F_\alpha(\nu_1, \nu_2)$, il n'y a pas de différence significative entre la précision des deux méthodes. Il est donc possible d'utiliser indifféremment l'une ou l'autre.

Si $F_{\text{exp}} > F_\alpha(\nu_1, \nu_2)$, une des deux méthodes, celle qui correspond à la variance estimée la plus élevée, est moins précise que l'autre.

D'une façon générale, lorsque cela est possible, il est avantageux d'effectuer un même nombre de mesures avec chacune des deux méthodes. La comparaison de plusieurs méthodes peut être réalisée de la même façon, les variances de chacune d'elles étant alors comparées deux à deux.

La précision de la méthode retenue pourra être évaluée à partir de sa variance $s^2(x)$ calculée ci-dessus. Au niveau de confiance $1 - \alpha$, l'erreur aléatoire affectant le résultat de mesure effectuée avec cette méthode est :

$$V_\alpha(x) = t_\alpha \,.\, s(x)$$

pour la moyenne de n mesures elle est égale à :

$$V_\alpha(\bar{x}) = t_\alpha \frac{s(x)}{\sqrt{n}}$$

Il est également possible à partir des résultats de l'expérience décrite ci-dessus, de comparer les moyennes x_a et x_b à la concentration C lorsque celle-ci est connue, afin de vérifier si les deux méthodes M_a et M_b conduisent à des résultats affectés d'une erreur systématique.

Ces comparaisons pourront être effectuées comme il a été indiqué au paragraphe précédent. Lorsque C n'est pas connu, les deux moyennes x_a et x_b pourront être comparées entre elles. Le principe de cette comparaison, lorsque les deux variances $s^2(x_a)$ et $s^2(x_b)$ ne diffèrent pas significativement entre elles, est le suivant :

On calcule :

$$d = \bar{x}_a - \bar{x}_b$$

et

$$s(d) = \sqrt{\frac{s^2(x_a)}{n_a} + \frac{s^2(x_b)}{n_b}}$$

Le quotient $\frac{d}{s(d)}$ est ensuite comparé à la valeur $t_\alpha(\nu)$ donnée par la table de Student pour la probabilité α et le nombre de degrés de liberté :

$$v = n_a + n_b - 2$$

Deux cas sont possibles :

$\frac{d}{s(d)} > t_\alpha(v)$; ce résultat montre que l'hypothèse de nullité de d a une probabilité très faible (inférieure ou égale à α) d'être vraie. On est donc conduit à la rejeter et par conséquent à conclure que les résultats fournis par les deux méthodes analytiques diffèrent entre eux de façon significative ;

$\frac{d}{s(d)} < t_\alpha(v)$; la probabilité de nullité de d n'est pas suffisamment faible (supérieure à α). On l'accepte donc mais cette acceptation a un caractère provisoire. Il n'est pas exclu en effet qu'un contrôle ultérieur conduise à une conclusion différente.

5.3 Choix d'une méthode d'échantillonnage

■ Recherches des caractéristiques du milieu contrôlé

Un plan d'échantillonnage doit être établi de façon à entraîner un nombre aussi faible que possible d'opérations de prélèvement et d'analyse, tout en permettant d'obtenir un résultat qui soit une estimation suffisamment précise de la vraie valeur de la grandeur mesurée.

Ce plan dépend donc de la précision exigée pour le contrôle ainsi que de la répartition du produit analysé dans le milieu contrôlé. Cette répartition, qui peut dépendre de plusieurs facteurs tels que le lieu ou la date du prélèvement, doit faire l'objet d'une étude expérimentale préliminaire. Il sera en particulier nécessaire de vérifier si l'influence de ces facteurs a un caractère aléatoire ou systématique. Les résultats de cette expérience préliminaire devront être soumis à une analyse statistique appropriée permettant de mettre en évidence les écarts significatifs entre les moyennes et les variances : test de Student, analyse de variance, etc.

L'expérience devra être organisée en fonction des facteurs qui semblent susceptibles d'avoir une importance dans le problème d'échantillonnage considéré. Pour cela, l'expérimentateur devra donc formuler *a priori* un certain nombre d'hypothèses, concernant la concentration du produit dosé, que l'analyse statistique lui permettra ensuite de vérifier ou d'infirmer.

La difficulté de ce genre de problème est due à ce que la dispersion de la totalité des résultats expérimentaux résulte de la composition des fluctuations aléatoires et des écarts systématiques introduits par les différents facteurs contrôlés. L'expérience devra donc être conduite de façon à ce que les variances et les différences relatives à chacun de ces facteurs puissent être isolées par l'analyse statistique. Par exemple, si des prélèvements d'eau ont été effectués en plusieurs points d'une rivière et à des

dates différentes, la dispersion des résultats d'analyse résultera des fluctuations introduites par ces deux facteurs, lieu et date, et aussi de celles provenant de la méthode analytique employée.

Les problèmes d'échantillonnage sont trop nombreux et variés pour qu'il soit possible d'indiquer en détail pour chacun d'eux le mode opératoire.

Mais il sera facile à l'expérimentateur d'adapter à chacun des cas qu'il aura à résoudre une des méthodes statistiques classiques de comparaison de moyennes ou variances.

Choix du plan d'échantillonnage

En fonction des facteurs de fluctuations qui auront pu être mis en évidence au cours du contrôle préliminaire, la méthode d'échantillonnage routinière devra être choisie de façon à effectuer les analyses sur un ou plusieurs échantillons suffisamment représentatifs de toute la masse d'eau contrôlée. Différentes possibilités peuvent se présenter.

■ Le facteur temps n'intervient pas

Si le débit et la concentration d'un effluent rejeté en rivière sont constants, la concentration dans les eaux de la rivière du produit contrôlé ne variera pas pendant toute la durée du rejet. Ce sera également le cas des contrôles de bassins. Il en sera de même lorsqu'on s'intéressera à la valeur instantanée d'une concentration.

– La concentration mesurée est répartie de façon homogène dans toute la masse de l'eau. Ce cas est le plus simple. Les prélèvements pourront être alors effectués une seule fois et en un seul point.

– La concentration mesurée n'est pas répartie de façon homogène dans toute la masse contrôlée. Ceci suppose qu'il a été possible de définir un certain nombre de fractions de la masse totale des eaux contrôlées à l'intérieur desquelles la concentration du produit dosé est répartie de façon homogène. Ceci pourra être le cas d'une rivière dans laquelle on pourra distinguer les eaux circulant en profondeur et celles circulant en surface par exemple. Dans un bassin, un effluent pourra ne pas avoir la même composition du côté de l'orifice de remplissage et du côté opposé.

Pour chacune de ces fractions de la masse d'eau totale, les prélèvements devront être conduits comme il est indiqué au chapitre précédent, ce qui permettra d'obtenir pour chacune d'elles une valeur moyenne de la caractéristique mesurée.

Lorsque le manque d'homogénéité est dans le sens vertical, c'est-à-dire lorsque la masse d'eau contrôlée se présente sous forme de couches horizontales de concentrations différentes, on peut ne pas échantillonner séparément dans chacune d'elles. Un dispositif de prélèvement approprié tel qu'un flacon lesté peut permettre de prélever dans chaque couche au cours d'une seule opération.

■ La concentration mesurée dépend du facteur temps

– La loi de variation de la concentration mesurée est connue. Il s'agira par exemple de variations journalières ou saisonnières des caractéristiques d'une rivière, d'une conduite d'alimentation, d'une nappe phréatique, etc. La fréquence des prélèvements devra être adaptée à celle de ces variations. Par exemple, pour des variations annuelles, il sera nécessaire d'ef-

Valeurs de la variable $t_\alpha(\nu)$ de Student

ν \ α	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	0,325	0,510	0,727	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,289	0,445	0,617	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,277	0,424	0,584	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,941
4	0,134	0,271	0,414	0,569	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,267	0,408	0,559	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,859
6	0,131	0,265	0,404	0,553	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,263	0,402	0,549	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,405
8	0,130	0,262	0,399	0,546	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,261	0,398	0,543	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,260	0,397	0,542	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,260	0,396	0,540	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,259	0,395	0,539	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,259	0,394	0,538	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,258	0,393	0,537	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,258	0,393	0,536	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,258	0,392	0,535	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,257	0,392	0,534	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,257	0,392	0,534	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,257	0,391	0,533	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,257	0,391	0,533	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,257	0,391	0,532	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,256	0,390	0,532	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,256	0,390	0,532	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,256	0,390	0,531	0,685	0,857	1,959	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,256	0,389	0,531	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,255	0,388	0,529	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
60	0,126	0,254	0,387	0,527	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,126	0,254	0,386	0,526	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	0,126	0,253	0,385	0,524	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

Valeurs de la variable $F_\alpha(\nu_1, \nu_2)$ de Snédécor pour la probabilité $\alpha = 0{,}05$

ν_2 \ ν_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3
2	18,51	19,0	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,77
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35

fectuer au moins deux séries de prélèvements par an à des dates correspondant autant que possible au maximum et au minimum.

Toutefois, dans la majorité des cas, le principe des prélèvements discontinus pourra être avantageusement remplacé par celui des prélèvements continus ; un appareillage approprié devra alors être utilisé.

– La loi de variation de la concentration mesurée n'est pas connue. Il en sera ainsi lorsqu'on voudra contrôler la pollution des eaux de rivière due à des rejets ayant lieu à des périodes non déterminées. Dans ce cas, il est nécessaire d'effectuer des prélèvements en continu, les mesures pouvant alors être discontinues. Ces prélèvements pourront, suivant l'homogénéité des eaux, être effectués en un ou plusieurs points. L'appareillage devra être adapté à la nature du contrôle : appareil de mesure en continu associé à un enregistreur, hydro-collecteur fournisseur des échantillons qui seront analysés en laboratoire.

Cette méthode est avantageuse lorsque le nombre de prélèvements E_1 est élevé et lorsque la méthode analytique est suffisamment précise.

Lorsque les résultats partiels relatifs à chaque échantillon E_1, et concernant par exemple chaque point ou chaque date de prélèvement, présentent un intérêt, elle peut encore être utilisée. Dans ce cas, les échantillons E_1 après prélèvement d'une partie aliquote sont conservés. Si le résultat de l'analyse des échantillons E_2 est significatif d'une variation anormale de la concentration du produit analysé, il sera alors possible de localiser cette variation en reprenant l'analyse des échantillons E_1.

Bibliographie

Y. Lacroix. *Analyse chimique. Interprétation des résultats par le calcul statistique.* Masson et Cie, Édit., Paris, 1962.

F. H. Rainwater, R. Avrett. Error inference in systematic samples statistics in stream quality studies. *J.A.W.W.A.*, 1962, **54**, (6), p. 757-768.

E. Leclerc, Beekmans, Edeline. Pollution de l'eau. Échantillonnage et méthodes d'analyse. *O.C.D.E.*, Paris, 1967.

R. Court. Analyse statistique du contrôle de la radioactivité des eaux du Rhône. *Rev. Inst. Past., Lyon*, 1968, **3-5**, p. 755-768.

M. Neuilly. Modélisation et estimation des erreurs de mesure. Lavoisier Éd., 1993.

5.4 Contrôle de qualité en analyse hydrologique

Beaucoup d'enquêtes de comparaison entre laboratoires montrent que des analyses portant sur un même échantillon donnent des résultats différents. Or, la valeur des renseignements obtenus lors des contrôles analytiques et par suite celle des actions entreprises au niveau des sources de pollution, est étroitement liée à la qualité des analyses pratiquées. Dans certains cas, l'absence de résultats de mesure peut même être, de ce point de vue, préférable à un résultat erroné, susceptible d'être à l'origine d'une décision malheureuse. Le résultat des analyses effectuées peut aussi conditionner le type de traitement à appliquer aux effluents ou remettre en cause la bonne marche du procédé utilisé avec les conséquences économiques que cela suppose. Une situation d'urgence, par exemple lors d'une pollution accidentelle, nécessite la mise en œuvre rapide d'un grand nombre d'analyses avec l'obli-

gation de fournir des résultats dans des délais très courts, mais toujours dans les meilleures conditions de sûreté analytique.

Il faut donc que l'analyste non seulement dispose de méthodes de dosages suffisamment sensibles, spécifiques et précises pour que les possibles variations des constituants dosés ne soient pas cachées par des *erreurs* d'analyse mais qu'il s'attache également à révéler, à corriger et à éliminer ces erreurs. C'est pour résoudre ces problèmes que les laboratoires ont mis en place un contrôle de qualité.

Par définition, *l'erreur absolue* est égale à la différence entre le résultat de l'analyse et la valeur vraie, *l'erreur relative* étant égale au quotient de l'erreur absolue par la valeur vraie. D'un point de vue pratique, les erreurs d'analyse peuvent être de plusieurs types mais elles interviennent à n'importe quel niveau : au moment du prélèvement, du transport, et de la conservation de l'échantillon, lors de son analyse, voire même pendant les calculs ou le relevé des résultats.

Les erreurs systématiques entraînent le glissement des résultats dans un seul et même sens. Elles sont constantes pour un laboratoire, une méthode et un élément à doser donné. À leur origine peuvent se trouver la détérioration des solutions étalons ou des réactifs utilisés, la dérive des appareils (automatiques ou non), l'emploi de filtres non adaptés pour les mesures spectrophotométriques, etc. Il s'agit en fait d'erreurs matérielles qui doivent être systématiquement recherchées et qui peuvent, la plupart du temps, être évitées. *Les erreurs fortuites* conduisent à une dispersion des résultats autour d'une valeur centrale ; elles ont en fait un caractère aléatoire et leur distribution suit une loi de Gauss représentée par une courbe « en cloche ». Elles ont pour origine l'imprécision des mesures (lecture d'un cadran, virage d'un indicateur…) et dépendent donc des qualités de l'analyste. Étant, sauf exception, de faible importance, les erreurs fortuites sont difficiles à supprimer.

Toutes ces erreurs peuvent cependant être sinon annulées, du moins réduites dans d'appréciables proportions, pour autant que l'on s'attache à contrôler les différentes étapes de l'analyse. Nous ne reviendrons pas ici sur la question des prélèvements et de la conservation des échantillons qui a été développée dans un autre chapitre. Nous nous bornerons à rappeler que le prélèvement conditionne la valeur de l'analyse et que le plus grand soin doit y être apporté. En fait, le contrôle de qualité commence au moment du prélèvement.

Un soin particulier doit également être apporté dans la préparation et l'utilisation des réactifs, le nettoyage de la verrerie ainsi que dans l'étalonnage des appareils utilisés, toutes opérations qui peuvent être source d'erreurs en l'absence de précautions élémentaires, particulièrement dans le cas d'analyses portant sur des éléments à l'état de traces ou sur des micropolluants.

Une méthode de dosage peut être caractérisée par un certain nombre de facteurs (ou qualités) qui permettent en même temps de classer les sources d'erreurs possibles.

5.4.1 Les critères de qualité

■ Contrôle de la précision

La précision d'une méthode est la qualité globale qui dépend de la justesse, de la fidélité et de la sensibilité de la méthode. Elle est valable pour un travail déterminé et pour un élément donné.

En fait, plus les erreurs provenant de l'utilisation sont petites, plus la précision de la méthode est grande. Une bonne connaissance des erreurs systématiques et fortuites permet de l'évaluer.

À l'exception de la limite de quantification, les valeurs numériques qui caractérisent les différents critères de qualité n'ont de signification que pour une valeur donnée. Il est donc indispensable de préciser pour quelles valeurs de la grandeur à mesurer les données numériques ont été déterminées. Ainsi par exemple il convient d'écrire qu'une méthode est juste à $\pm$ 0,01 % ou reproductible à $\pm$ 10 . 10^{-6} pour une valeur de x.

Contrôle de la sensibilité

La sensibilité d'une méthode est définie, au voisinage d'une valeur donnée de la grandeur à mesurer, par le quotient de l'accroissement de la grandeur mesurée x par l'accroissement correspondant de la grandeur à mesurer C. Elle dépend de l'élément dosé, du milieu étudié et des conditions instrumentales.

Pour déterminer de faibles concentrations, il peut arriver que l'on soit à la *limite de détection* de la méthode, limite qui correspond à la concentration minimale de l'élément dosé qui peut être détectée avec une probabilité de 95 %. Ainsi, par exemple, dans le cas d'une mesure par spectrophotométrie d'émission, de flamme ou d'absorption, la limite de détection est définie comme la concentration pour laquelle l'appareil de mesure délivre un signal égal au moins à deux fois les fluctuations dues au bruit de fond.

Contrôle de la fidélité

La fidélité d'une méthode est au voisinage d'une valeur donnée de la grandeur à mesurer, l'étroitesse de l'accord entre les valeurs expérimentales obtenues avec cette méthode au cours d'un ensemble d'expériences effectuées dans des conditions bien déterminées. La fidélité d'une méthode peut être jugée au moyen de deux tests : la répétabilité et la reproductibilité. La répétabilité est l'expression quantitative de la fidélité dans le cas d'un même opérateur travaillant dans le même laboratoire avec les mêmes appareils et les mêmes réactifs. La reproductibilité est l'expression quantitative de la fidélité dans le cas de plusieurs opérateurs travaillant dans des laboratoires différents utilisant les mêmes méthodes mais avec des moyens différents. L'écart-type intralaboratoire est un critère de la répétabilité. L'écart-type inter-laboratoire est un critère de la reproductibilité.

La notion d'opérateur est très subjective. Elle implique d'exclure l'opérateur novice et l'opérateur très confirmé pour ne retenir que toute personne possédant une expérience normale de la méthode d'essai.

Contrôle de la justesse

La justesse d'une méthode est, au voisinage d'une valeur donnée de la grandeur à mesurer, l'étroitesse de l'accord entre la valeur vraie et la moyenne des résultats qui seraient obtenus en appliquant cette méthode un très grand nombre de fois. En pratique, elle est définie par l'erreur de justesse. Ainsi par exemple, dans le cas d'un grand nombre d'essais effectués par les laboratoires et des opérateurs différents, si V_0 est la valeur vraie à mesurer et V la moyenne arithmétique des résultats, l'erreur de justesse est égale à $V - V_0$.

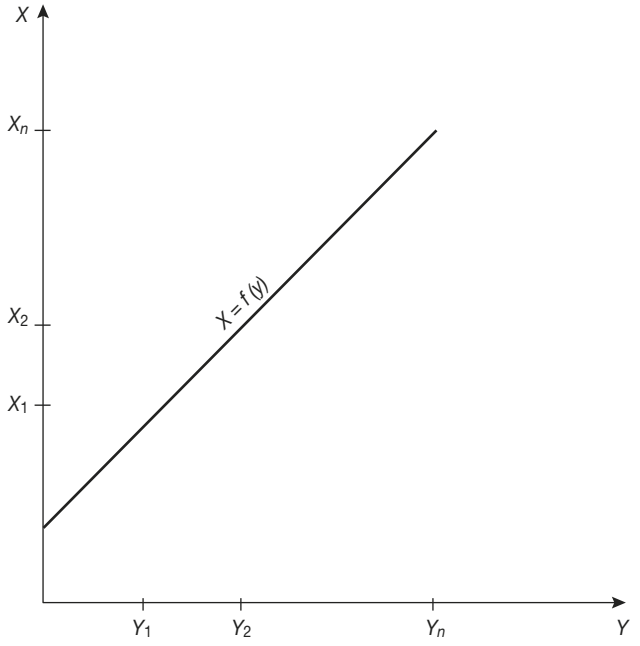
L'erreur de justesse provient des erreurs systématiques liées plus particulièrement à l'étalonnage ou à une mauvaise préparation de l'échantillon et des effets de matrice mal corrigés.

Détermination de l'erreur systématique

L'erreur systématique est généralement du domaine du dosage. Deux situations peuvent se présenter :

1) En présence d'échantillons dont la valeur des paramètres à mesurer est connue, on peut étalonner sa propre méthode de détermination en fonction de ces échantillons de référence.

Calculer les valeurs du paramètre mesuré par rapport à la gamme, soient x_1, x_2, x_n, les valeurs obtenues pour ce paramètre avec les échantillons de référence. Soient y_1, y_2, y_n, les valeurs vraies de ces échantillons de référence pour ce paramètre, établir graphiquement la courbe $x = f(y)$. Cette courbe caractérise la justesse de la méthode utilisée.



Cas d'une erreur systématique constante

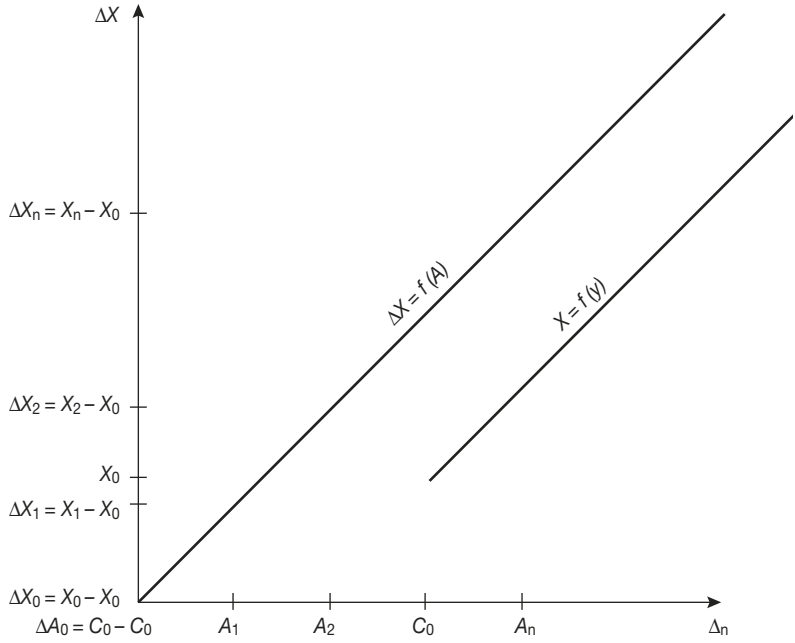
En l'absence d'erreurs systématiques, cette courbe est la bissectrice du système *Ox*, *Oy*; sa pente est égale à 1.

En présence d'une erreur systématique constante, la courbe est une parallèle à la bissectrice. C'est ce qui est obtenu par exemple, pour une erreur systématique due à un blanc constant ou un bruit de fond constant. Si l'erreur systématique est proportionnelle à la valeur vraie de ce paramètre, la pente de la courbe $x = f(y)$ sera différente de 1.

2) En l'absence d'échantillons de référence, utiliser la méthode des ajouts dosés et des prises multiples.

Méthode des ajouts dosés

Elle consiste à ajouter des quantités connues de l'élément à doser sous une forme identique à celle où il se trouve dans la solution à doser. Soit x_0, la valeur obtenue par la méthode utilisée pour l'échantillon à déterminer. Soient A_1, A_2, … A_n des quantités connues des ajouts de l'élément à déterminer exprimées dans la même unité et x_1, x_2, x_n, les valeurs obtenues après chaque ajout. Porter graphiquement en ordonnées les valeurs $x_0 - x_0$, $x_1 - x_0$, … $x_n - x_0$ et en abscisse A_1, A_2, … A_n. Pour faire abstraction des erreurs aléatoires, tracer la courbe moyenne soit au jugé soit par des méthodes de régression. La courbe obtenue $x = f(A)$ est identique, à une translation inconnue près, à celle que l'on aurait obtenue en traçant la courbe $x = f(y)$ ou $y_i = C_0 + A_i$ et $X_i = f(y_i)$, l'origine de la nouvelle courbe étant C_0, X_0 (X_0 étant la valeur obtenue lors du dosage pour l'échantillon considéré et C_0, sa valeur vraie).

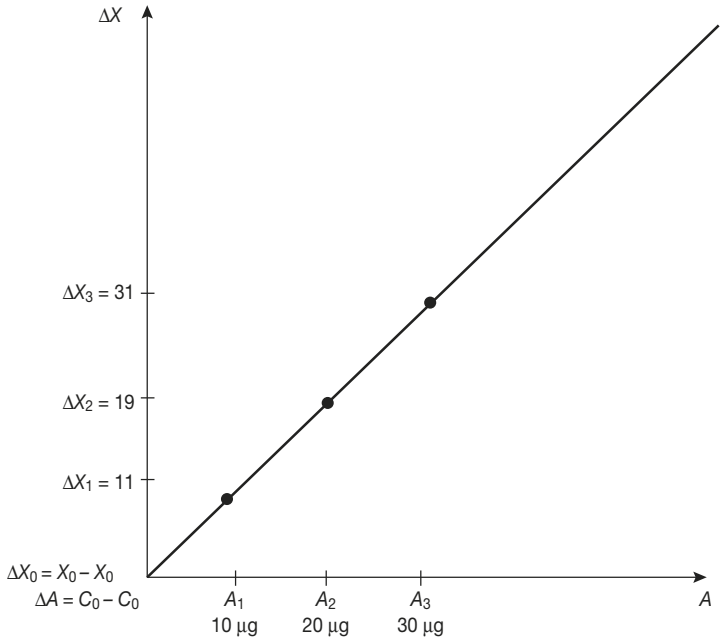


Donc l'existence d'une erreur systématique constante ne peut être décelée par cette méthode. Pour une erreur proportionnelle au paramètre mesuré, la pente de la courbe permettra de rectifier ; si la pente est égale à 1, l'erreur systématique est constante mais non mesurable.

Exemple : dosage d'ammoniaque effectué par la méthode au bleu d'indophénol

Pour une prise d'essai de 10 mL, la teneur trouvée dans l'échantillon est de 10 µg. Après les ajouts successifs A_1, A_2, A_3, de A_1 = 10 µg, A_2 = 20 µg, A_3 = 30 µg, les résultats des dosages ont donné :

$$x_1 = 21\ \mu g/L, \quad x_2 = 29\ \mu g/L, \quad x_3 = 41\ \mu g/L$$



La courbe $\Delta x = f(A)$ est pratiquement confondue avec la 1re bissectrice

Méthode des prises multiples

Cette méthode est utilisée en complément de la méthode des ajouts dosés. Comme précédemment, on a la courbe $\Delta x = f(A)$, x_0 correspondant à une prise p d'échantillon et soit C_0 sa valeur vraie non connue. Soit x'_1, la valeur mesurée pour une prise $2p$ du même échantillon, x'_2, celle correspondant à une prise $3p$. Sur la courbe $\Delta x = f(A)$, à la valeur $x'_1 - x_0$ correspond une estimation $\hat{C}_0$ de la valeur vraie C_0 (x_0 correspond à C_0). De même pour la prise $3p$, $x'_2 - x_0$ *correspond à une estimation* $2\hat{C}_0$ de la valeur vraie $2C_0$; et par récurrence, pour une prise $(n + 1)\,p$, $x'_n - x_0$ correspond à une estimation de la valeur vraie nC_0.

Exemple : même dosage d'ammoniaque que dans l'exemple précédent

Un dosage pour une prise de 20 mL ($2p$) a donné une teneur de 17 µg (x'_1) et sur une prise de 50 mL ($5p$) de 40 µg (x'_4).

La valeur $\Delta x'_1 = (x'_1 - x_0) = 7$ µg correspond à une estimation $\hat{C}_0$ de C_0. De même pour $\Delta x'_4 = x'_4 - x_0 = 30$ µg, elle correspond à une estimation de $4\hat{C}_0$ soit pour $\hat{C}_0 = 7{,}5$ µg, l'estimation moyenne $\hat{C}_0$ de C_0 sera $\hat{C}_0 = 7{,}25$ µg et l'erreur systématique qui est constante, de 2,5 µg.

Si, une interaction due à un élément de la matrice est proportionnelle à la concentration, le rapport élément interférant/élément dosé est constant donc, l'erreur systématique est constante et dans le cas de prises multiples, le rapport reste constant ; l'erreur systématique est alors multipliée par n

pour une prise *np*. Le résultat obtenu sera nx_0 aux erreurs accidentelles près, donc en apparence correct. L'existence d'une erreur systématique proportionnelle à la concentration ne peut être décelée par cette méthode. L'usage simultané des deux méthodes permet, à l'exception ci-dessous près, de déterminer l'erreur systématique.

Remarque

L'emploi simultané de ces 2 méthodes ne suffit cependant pas pour déceler certaines erreurs systématiques. À savoir, si la solution étalon est erronée et a été utilisée aussi pour les ajouts dosés l'erreur introduite est proportionnelle à la concentration.

5.4.2 Organisation d'un contrôle de qualité

Pratiquement, le contrôle de qualité d'une méthode d'analyse, dont l'organisation doit être la plus simple possible, doit s'effectuer en mettant en œuvre un nombre d'échantillons aussi réduit que possible pour chaque laboratoire concerné. En effet, il est préférable d'accroître le nombre de ces derniers et de diminuer le nombre de déterminations qu'ils auront à effectuer.

Le contrôle de qualité peut donc s'établir en plusieurs étapes.

1) Préparation d'échantillons témoins, à caractéristiques définies et homogènes.

Pour les échantillons à analyser, 3 possibilités sont offertes :

– utilisation d'échantillons d'eau naturelle, ce qui permet d'opérer dans des conditions proches des conditions réelles ; dans ce cas, la « vraie valeur » est en fait la « valeur moyenne » ;

– utilisation mixte d'échantillons d'eau naturelle, et d'eau naturelle additionnée d'une quantité connue de l'élément à doser ;

– utilisation d'échantillons synthétiques.

2) Détermination des valeurs moyennes des éléments constituants ces échantillons. Analysées dans des conditions de mesure identiques, ces valeurs moyennes font donc intervenir les *erreurs systématiques* et vont constituer les références du contrôle de qualité.

3) Détermination de la déviation standard, selon les méthodes statistiques habituelles et choix de l'écart-type ($\pm 1\sigma$, $\pm 2\sigma$, …). Pour cela, il est nécessaire de tenir compte d'un certain nombre de facteurs : nombre de manipulateurs effectuant les mesures, espacement des analyses, nombre et nature des échantillons, etc.

Il va de soi que ce choix de l'écart-type conditionne en partie le coût du contrôle de qualité : plus il est « rétréci », plus les analyses ont de chances de se trouver en dehors de la « fourchette », et donc d'être à refaire.

On notera au passage que la détermination de l'écart-type peut également permettre d'évaluer les variations dues à une pollution, de même qu'elle renseigne sur la valeur d'un appareil ou la dextérité d'un opérateur.

4) Établissement de graphique.

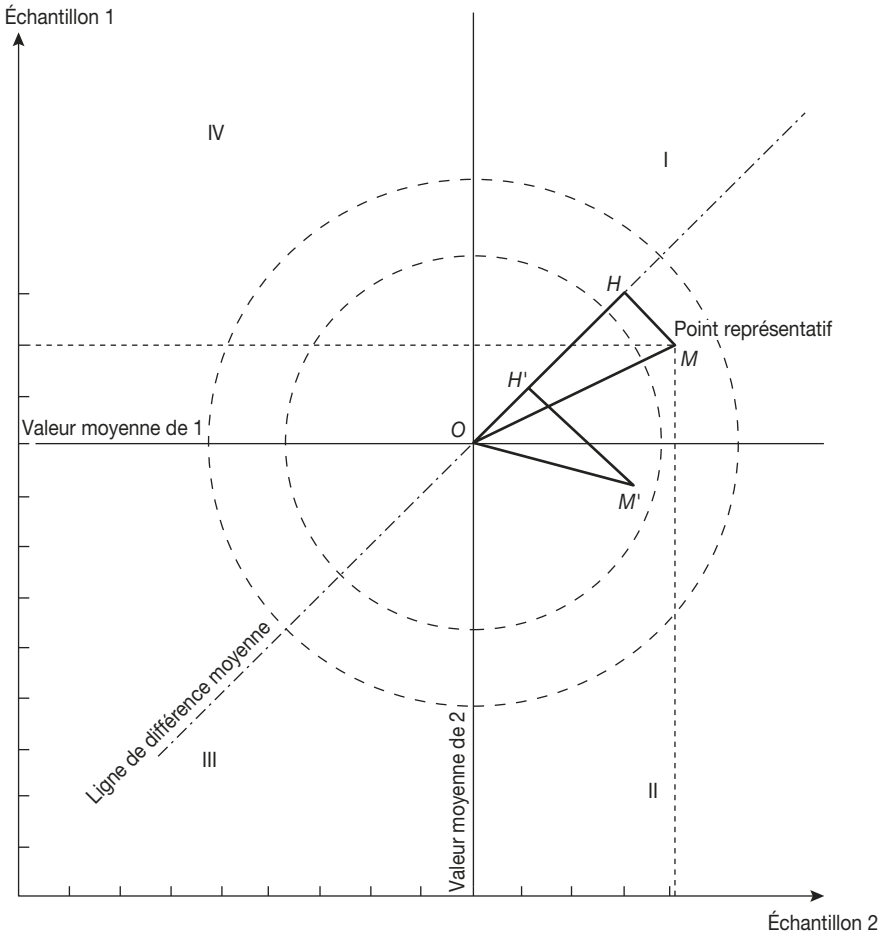
Plusieurs méthodes ont été proposées pour l'organisation pratique du contrôle et l'exploitation rationnelle des résultats parmi lesquelles il est possible de citer :

a) *La méthode des cartes à valeur moyenne*, qui consiste à faire effectuer un grand nombre de fois la même mesure par une même personne et à

dresser ensuite un graphique (une carte) à l'aide des valeurs ainsi obtenues, sur lequel sont déterminés, également reportés, les paramètres cités précédemment : valeur moyenne, écart-type σ ainsi que coefficient de variation (ou pourcentage d'erreurs probable).

Des limites sont ensuite fixées qui permettent de déterminer dans quelle mesure les résultats des analyses ultérieures seront considérés comme exploitables. En général, ces limites sont égales à $\pm 2\sigma$, toute valeur située hors de cette fourchette devant être considérée comme suspecte.

b) *La méthode de Youden ou méthode des deux échantillons.* Chaque laboratoire participant au contrôle de qualité reçoit deux échantillons, similaires mais légèrement différents et sur lesquels il doit effectuer une seule analyse. Les résultats de l'ensemble de ces mesures sont ensuite reportés sur un graphique : les résultats de l'analyse de l'échantillon n° 1 (A_1) sont



MH : Erreur fortuite
MO : Erreur totale
HO : Erreur systématique

Méthode de Youden

reportés en abscisse, ceux de l'analyse de l'échantillon n° 2 (A_2) sont reportés en ordonnée. L'erreur systématique étant identique pour les deux mesures A_1 et A_2, la différence : $D = A_1 - A_2$ correspond à l'erreur fortuite. La précision peut alors être calculée par la relation :

$$p = \sqrt{\frac{\Sigma D^2 - \Sigma(D)^{\frac{2}{n}}}{2(n-1)}}$$

1,552p englobant 70 % des résultats.

2,448p englobant 95 % des résultats.

Le graphique est ensuite complété (*voir* figure) par deux droites parallèles aux axes et passant par la valeur moyenne de A_1 et A_2. Ces deux droites déterminent 4 quadrants et ont pour intersection la vraie valeur cherchée. L'ensemble des points caractérisant chaque laboratoire permet de comparer entre eux l'ensemble des résultats.

Si au cours des mesures seules les erreurs fortuites sont en cause, les différentes valeurs trouvées seront distribuées à peu près également dans les 4 quadrants. En fait, les points représentatifs sont situés le plus souvent dans les quadrants I et III puisque les résultats sont soit trop élevés, soit trop faibles.

La validité de chaque mesure est évaluée par rapport à l'écart qui la sépare de cette intersection (on peut par exemple tracer des cercles concentriques ayant pour rayon 1 σ, 2 σ, …).

Mais le graphique permet également de caractériser certains paramètres de l'analyse :

– la distance *MO* du point représentatif au point central caractérise l'erreur totale ;

– la distance *HM* caractérise l'erreur fortuite ;

– la distance *HO* caractérise l'erreur systématique.

Ainsi, par exemple, dans le cas de l'analyse représentée par le point *M*, l'erreur systématique (*HO*) est prédominante alors que pour l'analyse représentée par le point *M'*, c'est l'erreur fortuite (*H'M'*) qui est la plus importante.

De même si un point se trouve sur la droite 45 °, seules les erreurs systématiques sont en cause et l'attention devra être d'autant plus attirée que le point se trouvera loin du point central.

Cette méthode de contrôle permet :

– de faire participer un très grand nombre de laboratoires sans surcroît important de travail, notamment au niveau de la sépartition des échantillons ;

– de déterminer autant de paramètres qu'on le souhaite ;

– de collationner les résultats de façon relativement aisée ;

– d'interpréter rapidement les différents résultats ;

– de ne pas avoir recours à des méthodes statistiques sophistiquées.

Bibliographie

W. J. Youden. Graphical diagnosis of interlaboratory tests results. *Industrial Quality Control*, 25, 11, 1959.

A. Henriksen. Intercalibration methods for chemical analysis of water. *Vatten*, 27, 1971.

M. Neuilly. Méthode d'analyse chimique avec ajouts et prises d'essai indépendantes. *Analusis*, 1983, **11**, (8), p. 385-389.

M. Neuilly. Méthode d'analyse avec erreur indépendante de la concentration. *Analusis*, 1983, **11**, (9), p. 441-445.

M. Neuilly. Modélisation et estimation des erreurs de mesure. Lavoisier Éd., 1993.

5.5 Quelques définitions

■ Le seuil de détection

C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte.

■ Le seuil de quantification

C'est la plus petite quantité d'une substance à rechercher dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fidélité et une exactitude définies.

■ La spécificité

Cette définition varie selon la rubrique à laquelle s'applique la spécificité : identification, essais, dosages.

Une procédure d'analyse est dite spécifique lorsqu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physico-chimique ou un groupement fonctionnel d'une ou plusieurs substances présentes dans l'échantillon. Elle est dite sélective lorsqu'elle permet de détecter qualitativement une substance à examiner en présence de composants pouvant être présents dans l'échantillon.

■ La fidélité

La fidélité de la procédure d'analyse exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites.

La répétabilité exprime la fidélité sous des conditions identiques : même analyste, même équipement, même réactif, court intervalle de temps.

La reproductibilité exprime la fidélité sous des conditions différentes : analystes, appareillages, laboratoires, réactifs et jours.

■ L'exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée, soit comme valeur conventionnellement vraie (étalon de référence utilisé au sein d'une firme), soit comme valeur de référence (étalon international, substance de référence SCR par exemple), et la valeur moyenne qui

est trouvée, obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois.

- **La linéarité**

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon.

- **La sensibilité**

La sensibilité est la capacité de la procédure d'analyse à enregistrer de faibles variations de la concentration.

- **La robustesse**

La robustesse est la capacité d'une procédure analytique à rendre des résultats valables en présence de modifications limitées des conditions expérimentales.

Bibliographie

X… *Guide de validation analytique*. Rapport d'une commission SFSTP I. Méthodologie.

Pr. J. Caporal-Gautier, J. M. Nivet. *S.T.P. Pharma Pratiques 2*, 1992, p. 205-226.

5.6 Table de limites de confiance pour le dénombrement de micro-organismes

Cette table est utilisée, par exemple dans le dénombrement des *Legionella* au chapitre B-5.2.

Limites de confiance au seuil 95 % du nombre moyen de micro-organismes
(ensemencement de 2 boîtes de Petri par dilution)

$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''
30	23	38,8	75	63,6	88,2	120	105,5	136,4	165	147,8	184	210	190,6	231,3	255	233,6	278,4
31	23,9	40	76	64,6	89,3	121	106,4	137,5	166	148,8	185,1	211	191,5	232,4	256	234,5	279,4
32	24,8	41,1	77	65,5	90,4	122	107,3	138,5	167	149,7	186,1	212	192,5	233,4	257	235,5	280,5
33	25,7	42,2	78	66,4	91,5	123	108,3	139,6	168	150,7	187,2	213	193,4	234,5	258	236,4	281,5
34	26,6	43,3	79	67,3	92,6	124	109,2	140,6	169	151,6	188,3	214	194,4	235,5	259	237,4	282,5
35	27,5	44,5	80	68,3	93,6	125	110,2	141,7	170	152,6	189,3	215	195,3	236,6	260	238,3	283,6
36	28,3	45,6	81	69,2	94,7	126	111,1	142,8	171	153,5	190,4	216	196,3	237,6	261	239,3	284,6
37	29,2	46,7	82	70,1	95,8	127	112,1	143,8	172	154,5	191,4	217	197,2	238,6	262	240,2	285,7
38	30,1	47,8	83	71	96,9	128	113	144,9	173	155,4	192,5	218	198,2	239,7	263	241,2	286,7
39	31	48,9	84	72	97,9	129	113,9	146	174	156,4	193,5	219	199,1	240,7	264	242,1	287,8
40	31,9	50	85	72,9	99	130	114,9	147	175	157,3	194,5	220	200,1	241,8	265	243,1	288,8
41	32,8	51,1	86	73,8	100,1	131	115,8	148,1	176	158,3	195,6	221	201,1	242,8	266	244	289,8
42	33,7	52,2	87	74,7	101,2	132	116,7	149,2	177	159,2	196,6	222	202	243,9	267	245	290,9
43	34,6	53,3	88	75,7	102,2	133	117,7	150,2	178	160,2	197,7	223	203	244,9	268	246	291,9
44	35,5	54,4	89	76,6	103,3	134	118,6	151,3	179	161,1	198,7	224	204	246	269	246,9	292,9
45	36,3	55,5	90	77,5	104,4	135	119,6	152,3	180	162,1	199,8	225	204,9	247	270	247,9	294
46	37,2	56,6	91	78,4	105,5	136	120,5	153,4	181	163	200,9	226	205,9	248,1	271	248,9	295
47	38,1	57,7	92	79,3	106,5	137	121,4	154,4	182	164	201,9	227	206,8	249,1	272	249,8	296,1
48	39	58,8	93	80,3	107,6	138	122,4	155,5	183	164,9	203	228	207,8	250,2	273	250,8	297,1
49	39,9	59,9	94	81,2	108,7	139	123,3	156,6	184	165,9	204	229	208,7	251,2	274	251,7	298,2
50	40,8	61	95	82,1	109,8	140	124,3	157,6	185	166,8	205,1	230	209,7	252,3	275	252,7	299,2
51	41,7	62,1	96	83,1	110,8	141	125,2	158,7	186	167,8	206,1	231	210,6	253,3	276	253,6	300,3
52	42,6	63,2	97	84	111,9	142	126,1	159,7	187	168,7	207,2	232	211,6	254,4	277	254,6	301,3
53	43,6	64,3	98	84,9	113	143	127,1	160,8	188	169,7	208,2	233	212,5	255,4	278	255,6	302,4
54	44,5	65,4	99	85,9	114,1	144	128	161,8	189	170,6	209,3	234	213,5	256,4	279	256,5	303,4
55	45,4	66,5	100	86,8	115,1	145	129	162,9	190	171,6	210,3	235	214,4	257,5	280	257,5	304,4

Limites de confiance au seuil 95 % du nombre moyen de micro-organismes *(suite)*
(ensemencement de 2 boîtes de Petri par dilution)

$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''	$\bar{x}$	m'	m''
56	46,3	67,6	101	87,7	116,2	146	129,9	164	191	172,5	211,4	236	215,4	258,5	281	258,4	305,5
57	47,2	68,7	102	88,7	117,2	147	130,8	165	192	173,5	212,4	237	216,3	259,6	282	259,4	306,5
58	48,1	69,8	103	89,6	118,3	148	131,8	166,1	193	174,4	213,5	238	217,3	260,6	283	260,4	307,5
59	49	70,9	104	90,5	119,3	149	132,7	167,1	194	175,4	214,5	239	218,2	261,7	284	261,3	308,6
60	49,9	72	105	91,5	120,4	150	133,7	168,2	195	176,3	215,6	240	219,2	262,7	285	262,3	309,6
61	50,8	73,1	106	92,4	121,5	151	134,6	169,3	196	177,3	216,6	241	220,1	263,8	286	263,2	310,6
62	51,7	74,1	107	93,3	122,6	152	135,6	170,3	197	178,2	217,6	242	221,1	264,8	287	264,2	311,7
63	52,6	75,2	108	94,3	123,6	153	136,5	171,4	198	179,2	218,7	243	222	265,8	288	265,2	312,7
64	53,6	76,3	109	95,2	124,7	154	137,5	172,4	199	180,1	219,8	244	223	266,9	289	266,1	313,7
65	54,5	77,4	110	96,1	125,8	155	138,4	173,5	200	181,1	220,8	245	223,9	267,9	290	267,1	314,8
66	55,4	78,5	111	97,1	126,8	156	139,3	174,5	201	182	221,9	246	224,9	269	291	268	315,8
67	56,3	79,6	112	98	127,9	157	140,3	175,6	202	183	222,9	247	225,9	270	292	269	316,8
68	57,2	80,7	113	98,9	129	158	141,2	176,6	203	184	224	248	226,8	271,1	293	269,9	317,9
69	58,2	81,7	114	99,9	130	159	142,2	177,7	204	184,9	225	249	227,8	272,1	294	270,9	318,9
70	59,1	82,8	115	100,8	131,1	160	143,1	178,8	205	185,9	226,1	250	228,8	273,2	295	271,8	320
71	60	83,9	116	101,8	132,1	161	144,1	179,8	206	186,8	227,1	251	229,7	274,2	296	272,8	321
72	60,9	85	117	102,7	133,2	162	145	180,9	207	187,8	228,2	252	230,7	275,2	297	273,8	322,1
73	61,8	86,1	118	103,6	134,3	163	146	181,9	208	188,7	229,2	253	231,6	276,3	298	274,7	323,1
74	62,7	87,2	119	104,5	135,3	164	146,9	183	209	189,7	230,3	254	232,6	277,3	299	275,7	324,2
															300	276,7	325,2

$\bar{x}$ = nombre moyen de micro-organismes dénombrés
m' = limite de confiance inférieure
m'' = limite de confiance supérieure

Note : Les limites de confiance données dans la table ne sont destinées qu'à fournir quelques notions de l'influence des variations statistiques sur les résultats. Il y a toujours d'autres sources de variations dues à la manipulation elle-même.

Annexes

• ANNEXES

Les acteurs français de la gestion de l'eau et de l'environnement

Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire (MEEDDAT)

Au niveau national, c'est la Direction de l'Eau et de la Biodiversité du Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire (MEEDDAT) qui définit et organise les interventions de l'État dans le domaine de l'eau. Ces actions sont réalisées en liaison avec d'autres ministères compétents pour des usages particuliers de l'eau (Santé, Agriculture, Industrie…).

Les agences de l'eau

En France, la politique de l'eau s'articule depuis 1964 autour de six bassins hydrographiques. À chaque bassin correspondent deux instances, le Comité de bassin et l'Agence de l'eau.

http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/france/01_politique. htm.

Agence de l'eau	Adresse	Superficie du bassin	Population
ADOUR-Garonne	90, rue du Férétra 31078 Toulouse Cedex	115 000 km^2	6 464 000 hab.
ARTOIS-PICARDIE	200, rue Marceline BP 818 59508 DOUAI Cedex	19 600 km^2	4 614 000 hab.
LOIRE-BRETAGNE	Avenue de Buffon BP 6339 45063 ORLEANS Cedex 02	155 000 km^2	11 605 000 hab.
RHIN-MEUSE	BP 19 Rozérieulles 57161 Moulins-les-Metz	31 500 km^2	3 962 000 hab.
RHÔNE-MÉDITERRANÉE-CORSE	2-4, allée de Lodz 69363 LYON Cedex 07	130 000 km^2	14 138 000 hab.
SEINE-NORMANDIE	51, rue Salvador Allendé 92027 Nanterre Cedex	96 600 km^2	17 386 000 hab.

Les agences de l'eau ont pour mission de faciliter les diverses actions d'intérêt commun dans chaque bassin hydrographique : préservation et amélioration de la ressource, lutte contre les pollutions, connaissance des milieux. Elles établissent et perçoivent des redevances pour les prélèvements d'eau et pour la détérioration de la qualité des milieux (redevance pollution). Elles attribuent des subventions ou des avances remboursables (aux collectivités locales, aux industriels et aux agriculteurs) pour l'exécution de travaux de dépollution d'intérêt commun. Elles ont également une mission d'information des publics sur l'eau.

Dans chaque Bassin, un **Préfet coordonnateur de bassin**, coordonne à l'échelle du bassin les actions des différents services de l'État dans le domaine de l'eau.

Les services déconcentrés de l'État

Les services déconcentrés de l'État, placés sous l'autorité des préfets de Région, mettent en œuvre la politique de l'État sous ses aspects réglementaires et techniques :

– Au niveau régional : les **DIREN** (Direction Régionale de l'Environnement), les **DRIRE** (Direction Régionale de l'Industrie, de la Recherche et de l'Environnement), les **DRE** (Direction Régionale de l'Equipement), les **DRAF** (Direction Régionale de l'Agriculture et de la Forêt) et les **DRASS** (Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales).

– Au niveau départemental : les **DDAF** (Direction Départementale de l'Agriculture et de la Forêt), les **DDASS** (Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales), et **DDE** (Direction Départementale de l'Équipement).

Leur action est coordonnée à l'échelle départementale au sein des **MISE** (Missions Inter-Services de l'Eau).

Au niveau départemental, une fusion est en cours entre les services de la DDE et de la DDAF et le nouvel organisme s'appellera **DDEA** (Direction Départementale de l'Équipement et de l'Agriculture).

Au niveau régional, une fusion de la DRE, de la DRIRE et de la DIREN sera mise en place en 2009 ou 2010 et le nouvel organisme portera le nom de **DREAL** (Direction Régionale de l'Écologie, de l'Aménagement et du Logement).

Les missions des différents services régionaux en matière d'eau et d'environnement sont explicitées dans le tableau ci-dessous.

Organismes	Missions
DIREN Direction Régionale de l'Environnement	– Mise en œuvre de la loi sur l'eau et des directives de la Communauté Européenne – Élaboration des schémas d'aménagement et de gestion des eaux en collaboration avec agences de l'eau et collectivités locales – Police en matière de gestion et d'aménagement des eaux – Protection et restauration des milieux aquatiques – Missions régionales ou interdépartementales sur l'environnement : application des législations, planification, animation et promotion des politiques de l'État
DRIRE Direction Régionale de l'Industrie, de la Recherche et de l'Environnement	– Contrôle des activités industrielles susceptibles d'avoir un impact sur l'environnement (ICPE : Installations Classées pour la Protection de l'Environnement) – Prévention et réduction des nuisances liées à ces établissements
DRE Direction Régionale de l'Équipement	– Grands projets d'aménagement urbains, routiers, ferroviaires ou fluviaux dans le respect de la réglementation en matière d'eau, d'environnement et de développement durable
DRAF Direction Régionale de l'Agriculture et de la Forêt	– Connaissance sociale et économique des territoires ruraux, agricoles et forestiers – Appuis techniques et missions de contrôle pour le développement de l'agriculture, de l'alimentation de l'élevage et de la pêche. – Accompagnement de la politique régionale dans le cadre du contrat de plan État/Région

Organismes	Missions
DRASS Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales	– Gestion des risques sanitaires liés aux pollutions (eau, air, déchets…) – Contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine et aux activités de loisir. – Identification des facteurs de risques environnementaux et information du public sur ces risques et sur la protection sanitaire à mettre en œuvre

Autres organismes impliqués dans la gestion de l'eau

Organisme	Missions
ADEME Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie	Placé sous la tutelle conjointe des ministères en charge de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire (MEEDDAT) et de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR), l'ADEME participe à la mise en œuvre des politiques publiques dans les domaines de l'environnement, de l'énergie et du développement durable. Elle met ses capacités d'expertise et de conseil à disposition des entreprises, des collectivités locales, des pouvoirs publics et du grand public et les aides à financer des projets dans cinq domaines (la gestion des déchets, la préservation des sols, les économies d'énergie et les énergies renouvelables, la qualité de l'air et la lutte contre le bruit) et à progresser dans leurs démarches de développement durable.
AFSSET Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail	Établissement public administratif de l'État, placé sous la tutelle des ministères de l'écologie, de la santé et du travail, l'AFSSET a pour missions : d'évaluer des risques sanitaires liés à l'environnement, de coordonner l'acquisition d'une expertise dans les domaines de la santé et de l'environnement (animation de réseaux d'experts scientifiques, financement de programmes de recherche pour la production de connaissances), diffusion d'avis et de recommandations.

Organisme	Missions
BRGM Géosciences pour une terre durable	Le BRGM est l'établissement de référence dans le domaine des Sciences de la Terre pour gérer les ressources et les risques du sol et du sous-sol. Il a pour objectifs de comprendre les phénomènes géologiques, de développer des méthodologies et des techniques nouvelles, de produire et diffuser des données pertinentes et de qualité. Il met à disposition les outils nécessaires à la gestion du sol, du sous-sol et des ressources, à la prévention des risques naturels et des pollutions, aux politiques publiques d'aménagement du territoire.
CEA Commissariat à l'Énergie Atomique	Positionné principalement sur la recherche technologique, le CEA s'appuie depuis toujours sur une recherche fondamentale reconnue pour son excellence, tant en sciences physiques qu'en sciences du vivant. Il intervient dans trois grands domaines : l'énergie, les technologies pour l'information et la santé, la défense et la sécurité.
CEMAGREF Sciences, Eaux et Territoires	Organisme de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement, le CEMAGREF compte actuellement 21 unités de recherche propres, 7 unités mixtes de recherche (UMR) et une équipe de recherche technologique (ERT) qui sont réparties sur 9 implantations régionales. Il centre ses recherches sur les ressources en eau de surface, les systèmes écologiques aquatiques et terrestres, les espaces à dominante rurale, les technologies pour l'eau, les agro-systèmes et la sûreté des aliments.
IFREMER Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer	L'IFREMER a pour missions de conduire et de promouvoir des recherches fondamentales et appliquées, des activités d'expertise et des actions de développement technologique et industriel. Il effectue une recherche finalisée pour répondre à des attentes sociétales (effets du changement climatique, biodiversité marine, prévention des pollutions, qualité des produits de la mer…). Il assure la surveillance des mers et du littoral et soutient la politique publique de gestion du milieu et des ressources. Il développe, gère et met à disposition de grandes infrastructures des recherche accessibles à l'ensemble de la communauté scientifique nationale et européenne, ainsi qu'aux partenaires privés.

Organisme	Missions
INERIS **I**nstitut **N**ational de l'**E**nvi**r**onnement industriel et des r**is**ques	L'INERIS a pour mission de réaliser ou faire réaliser des études et des recherches permettant de prévenir les risques que les activités économiques font peser sur la santé, la sécurité des personnes et des biens ainsi que sur l'environnement, et de fournir toute prestation destinée à faciliter l'adaptation des entreprises à cet objectif.
INRA Institut National de la Recherche Agronomique	Premier institut de recherche agronomique en Europe, deuxième dans le monde, l'INRA mène des recherches finalisées pour un alimentation adaptée, pour un environnement préservé et pour une agriculture compétitive et durable. Au cœur des enjeux de développement, les recherches sont orientées sur l'alimentation, l'environnement et la valorisation des territoires.
ONEMA Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques	L'ONEMA est l'organisme technique français de référence sur la connaissance de l'état des eaux et sur le fonctionnement écologique des milieux aquatiques. Il a pour missions de développer les connaissances sur les hydrosystèmes et leurs applications, d'assurer l'information sur les ressources en eau, les milieux aquatiques et leurs usages, de veiller au respect des réglementations concernant l'eau, de mettre ses compétences techniques au service du diagnostic de l'état des eaux et des milieux.

Les syndicats professionnels et les associations impliquées dans la gestion de l'eau

Syndicat professionnel ou association	Coordonnées	Missions
AGHTM Voir ASTEE		
AGLAE Association Géérale des Laboratoires d'Analyses de l'Environnement	629, Avenue de la République 59000 Lille http://www.association-aglae.fr	Regroupant plus de 450 adhérents, l'association AGLAE a pour objectif d'œuvrer pour l'amélioration des analyses, notamment chimiques et microbiologiques, d'eaux et autres compartiments de l'environnement. C'est un organisme accrédité par BELAC et le COFRAC pour la mise en œuvre d'essais d'aptitudes conformément aux exigences du Guide ISO/CEI 43-1.

Syndicat professionnel ou association	Coordonnées	Missions
APTEN Association de Professionnels du Traitement des Eaux et des Nuisances	ESIP (Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers) 40, Av. du recteur Pineau 86022 Poitiers Cedex http://www.apten.org	Organisation bisannuelle du colloque Journées Information Eau (JIE) à Poitiers Organisation de stages de formation
ASEES Association Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé	4, avenue de l'Observatoire 75270 Paris http://www.waternunc.com	Publication des revues scientifiques (European Journal of Water Quality, Cahiers de l'ASEES) Organisation de colloques dans le domaine de l'eau
ASTEE Association Scientifique et Technique pour l'Eau et l'Environnement Ex-AGHTM	83, Avenue Foch BP 39 16 75761 Paris Cedex 16 http://www.astee.org	Échanges d'informations techniques, scientifiques et administratives entre auteurs et acteurs de la conception, de la réalisation et de l'exploitation dans le domaine du génie urbain et rural Publication de la revue « Techniques Sciences et Méthodes » Organisation de colloques et forums Réalisation d'études et de recherches dans le cadre de groupes de travail ou de commissions Aide à la décision aux pouvoirs publics et aux acteurs de l'environnement
BIPEA Bureau Interprofessionnel d'Études analytiques	6-14, Avenue Louis Roche 92230 Gennevilliers http://www.bipea.org	Association de droit privé, le BIPEA a pour missions d'organiser les essais de comparaisons interlaboratoires et d'aider les laboratoires à maîtriser, maintenir et améliorer leur performance.

Syndicat professionnel ou association	Coordonnées	Missions
CEDRE Centre de documentation, de recherches et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux	715 rue Alain Colas CS 41836 29218 BREST CEDEX 2 http://www.cedre.fr	Lutte contre les pollutions accidentelles le long du littoral français et protection des eaux intérieures
CEFRACOR Centre Français de l'Anticorrosion	28 rue Saint Dominique 75007 Paris http://www.cefracor.org	Répondre aux questions de corrosion et de durabilité des matériaux, dans tous les domaines industriels, Organiser les transferts de connaissances (publications scientifiques et techniques, recommandations et normes)
CIEau Centre d'Information sur l'Eau	BP 5 75362 PARIS CEDEX 08 http://www.cieau.com	Fondé par les sociétés assurant le service de l'eau et de l'assainissement pour répondre aux interrogations du public par le biais de la réalisation de documents d'information adaptés aux différents publics (consommateurs, scolaires, associations…)
EXERA Association d'exploitants d'équipements de mesure, de régulation et d'automatismes	4, cité d'Hauteville 75010 Paris http://www.exera.com	Regroupement d'industriels (principalement du traitement des eaux) utilisateurs d'instruments de mesure pour la mise en commun des connaissances et l'évaluation technique des produits
FNDAE Fonds National pour le Développement des Adductions d'Eau	http://www.fndae.fr	Aide financière aux collectivités rurales, pour leurs travaux d'alimentation en eau potable et d'assainissement (organisme géré par le ministère de l'Agriculture et de la Pêche) Publication de documents techniques de synthèse
FNE France Nature Environnement	6, rue Dupanloup 45000 Orléans	Regroupement d'associations françaises pour la préservation de la nature et de l'environnement

Syndicat professionnel ou association	Coordonnées	Missions
IOA International Ozone Association	http://www.io3a.org	Information, transfert de technologies et développement de procédés concernant l'ozone Organisation de colloques Publication de la revue « Ozone News »
IWA International Water Association	http://www.iwahq.org/	Réseau de professionnels du traitement des eaux, organisateurs de symposiums, de travaux de recherche, de groupes de travail Publication de journaux scientifiques (Water Research, Water Science and Technology, Journal of Water and Health, Journal of Water Supply : Research and Technology – Aqua, Hydrology Research…)
OIEau Office International de l'Eau	Direction générale : 21 rue de Madrid 75008 PARIS http://www.oieau.fr	Collecte et diffusion d'informations dans le domaine de l'eau Animation de programmes d'études, analyses documentaires et synthèses bibliographiques mises à disposition des institutions Gestion de bases de données Formation aux métiers de l'eau
SPDE Syndicat Professionnel des Entreprises de Services d'Eau	82, avenue Foch 75116 Paris http://www.waternunc.com	Regroupement de la quasi-totalité des entreprises françaises assurant la gestion des services d'eau et d'assainissement en France
SYPRODEAU Syndicat National des Produits chimiques de traitement et d'assainissement des eaux	Immeuble Diamant A 92909 Paris La Défense http://www.syprodeau.org	Information et concertation des sociétés intervenant dans la fabrication et l'application de spécialités chimiques pour le traitement des eaux

Ressources documentaires en analyse hydrologique

Liste indicative d'ouvrages traitant d'hydrologie et d'analyse

Académie des Sciences. Etudes sur l'environnement : de l'échelle du territoire à celle du continent. Editions Tec et Doc. 2003.

AFNOR. Qualité de l'eau. Recueils de normes. CD. Avril 2008.

AFNOR. Biosurveillance de l'environnement. (t.1 : écotoxicologie terrestre – t.2 : écotoxicologie aquatique). Recueils de normes. CD. Septembre 2005.

AFNOR. La chimie analytique – t.2 : échantillonnage, méthodes générales d'analyse et réactifs. Recueils de normes. CD. Novembre 2006.

Alley E.R. Water Quality Control Handbook. Mc GRAW-Hill. 2nd edition. 2007.

AMIARD J.C. et AMIARD-TRIQUET C. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Editions TEC & Doc-Lavoisier. 2008.

ANCTIL F., ROUSSELLE J. et LAUZON N. Hydrologie, cheminements de l'eau. Presses Internationales Polytechniques. 2005.

ANDRE P., DELISLE C.E. et REVERET J.P. L'évaluation des impacts sur l'environnement : processus, acteurs et pratiques pour un développement durable. Presses Internationales Polytechniques. 2003.

ANGELIER E. Ecologie des eaux courantes. Editions Tec et Doc. 2000.

APHA/AWWA/WEF (American Public Health Association, American water Works Association, Water Environment Federation). Standard methods for the examination of water and wastewater. APHA, Washington DC. 21st edition. 2005.

ASTM International. Annual Book of ASTM standards. Section 11 (11.01 to 11.07). Water and environmental technology. 2009.

ATTEIA O. Chimie et pollution des eaux souterraines. Editions TEC & Doc-Lavoisier. 2005.

Aubert M.H., Bernier S., Boisset M., Brendel A., Diers B. Freyria A.M., Munch S. et Vaganay E. 100 nouvelles fiches de sécurité des produits chimiques au laboratoire. DUNOD, Aide-mémoire de l'Ingénieur. 2004.

AWWA (American Water Works Association). Water Quality and Treatment : A Handbook of Community Water Supplies. 5th edition. AWWA. 1999.

BARBAULT R. Ecologie générale, structure et fonctionnement de la biosphère. DUNOD. 6e édition. 2008.

BARDEZ E. Mini-manuel de chimie générale : Chimie des solutions. DUNOD. 2008.

BELJEAN-LEYMARIE M., DUBOST J.P. et GALLIOT-GUILLEY M. Chimie analytique : chimie des solutions. MASSON. 2006.

BERNIER S. BRENDEL A., DIERS B., FREYRIA A.M., KARLI M. et VAGANAY E. 100 fiches pratiques de sécurité des produits chimiques au laboratoire. DUNOD, Aide-mémoire de l'Ingénieur. 2e édition. 2008.

BERTRAND-KRAJEWSKI J.L. LAPLACE D. JOANNIS C et CHEBBO G. Mesures en hydrologie urbaine et assainissement. Edictions Tec et Doc. 2008.

BLIEFERT C. et PERRAUD R. Chimie de l'environnement : air, eau, sols, déchets. De Boeck Université – Bruxelles. 2e édition. 2003.

BLOCK J. C., SCHWARTZBROD L. Analyse virologique des eaux. Techniques de mise en évidence des virus humains. Technique et Documentation, Paris, 1982.

BONTOUX J. Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturelles, eaux usées, eaux de boisson. Technique et Documentation, Paris et Cebedoc Éd., Liège, 1993.

BURGOT G. et BURGOT J.L. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : méthodes chromatographiques, électrophorèse et méthodes spectrales. Editions Tec et Doc – EM Inter. 2006.

BURGOT J.L. Chimie analytique et équilibres ioniques. Editions Tec et Doc – EM Inter – Lavoisier. 2006.

CACHAU-HEREILLAT D. Des expériences de la famille acide-base. De Boeck – Bruxelles. 2005.

CAILLOT A. La radioactivité au service de l'industrie et de l'environnement. Editions Tec et Doc. 2002.

CHOCAT B. Encyclopédie de l'hydrologie urbaine et de l'assainissement. Editions Tec et Doc. 1997.

CNRS. Abécédaire de la chimie. CNRS Editions. 2006.

COLONNA P. La chimie verte. Editions Tec et Doc. 2006.

DAB W. Santé et environnement. PUF. 2008.

DAJOZ R. Précis d'écologie. DUNOD. 8e édition. 2008.

DEGREMONT. Lexique technique de l'eau – Français-Anglais/English-French. LAVOISIER TEC & Doc. 1995.

DEGREMONT. Mémento technique de l'eau. Degrémont/Suez. 10e édition. 2005.

DELARRAS C. et TREBAOL B. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation, prélèvements, analyses. Editions Tec et Doc-EM Inter. 2003.

DELARRAS C. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Editions Tec et Doc-EM Inter-Lavoisier. 2007.

DELARRAS C. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. LAVOISIER TEC & Doc. 2003

DELAY M. La gestion des aquifères. MASSON. 1997.

DELCOURT M.O., BOIS N. et CHOUAIB F. Equilibres chimiques en solution. De Boeck Université. 2000.

DESJARDINS C. Le traitement des eaux. LAVOISIER TEC & Doc. 1997.

DESJARDINS R. Le traitement des eaux. Presses Internationales Polytechniques. 2e édition. 1997.

DEVILLERS J., FARRET R., GIRARDIN P. RIVIERE J.L. et SOULAS G. Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation de pesticides. Editions Tec et Doc – Lavoisier. 2005.

DIAOT T., KLOTZ M. et ISAAC X. Vocabulaire de l'environnement/Glossary of environmental terms/Umweltwortschatz Français/English/Deutsch. Lavoisier publishing – Intercept. 1996.

DORE M. Chimie des oxydants et traitements des eaux. Technique et Documentation, 1989.

DUMAS M.L. et BEN-AIM R.I. Réactions ioniques en solution aqueuse. Bréal. 2003.

EDELINE F. Epuration biologique des eaux. CEBEDOC. 2001.

EDELINE F. Le pouvoir auto-épurateur des rivières : une introduction critique. CEBEDOC – Editions TEC & Doc. 2001

EDITIONS LEGISLATIVES. Environnement et Nuisances Code Permanent. Paris.

EDITIONS LEGISLATIVES. Environnement et Nuisances Dictionnaire Permanent. Paris

EPA (United States Environmental Protection Agency). National Primary Drinking Water Regulations : Public Notification Rule. List of Contaminants and their Maximum Contaminant Levels (MCLs). EPA 816-F-03-016, June 2003.

FEINBERG M. Validation des méthodes d'analyse, Une approche de l'assurance qualité au laboratoire. Dunod/L'Usine Nouvelle, Techniques et ingénierie. 1996.

FLEURY M.B. Cours de chimie analytique : équilibres en solution. Polytechnica SA. 1996.

GAUJOUS D. La pollution des milieux aquatiques : Aide-mémoire. Technique et Documentation, 1993.

GERIN M., GOSSELIN P., CORDIER S., VIAU C., QUENEL P. et DEWAILLY E. Environnement et santé publique : fondements et pratiques. EDISEM. 2005.

GUERNET M., GUERNET E. et HERRENKNECHT C. Chimie anamlytique : équilibres en solution. DUNOD. 2006.

HARTEMANN PH., MOLL M. Les eaux conditionnées. Techniques et Documentation – Lavoisier, Apria, 1992.

HASLAY C., LECLERC H. Microbiologie des eaux d'alimentation. Technique et Documentation, 1993.

JOHANET. Guide de l'eau 2007/08. Editions Johanet. 2007.

KOLLER E. Traitement des pollutions industrielles : eau, air, déchets, sols, boues. Dunod/L'Usine Nouvelle (Coll. technique et ingénierie, série environnement et sécurité). 2004.

KOTZ J.C. et TREICHER P.M. Chimie des solutions. De Boeck – Bruxelles. 2006.

LABBE J.C. et MEXMAIN J. Traité général de chimie : chimie des solutions aqueuses – électrochimie. Ellipses. 2001.

LAGADIC L., CAQUET T. AMIARD J.C. et RAMADE F. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Editions Tec et Doc. 1998.

LAGADIC L., CAQUET T. et RAMADE F. Les biomarqueurs en écotoxicologie. MASSON. 1997.

LARPENT J. P., LARPENT-GOURGAUD M. Mémento technique de microbiologie. Technique et Documentation, 1990.

LE CLOIREC P. Les composés organiques volatils (COV) dans l'environnement. Editions Tec et Doc. 1998.

LEGRAND L., POIRIER G., LEROY P. Les équilibres calcocarboniques et l'équilibre calcocarbonique dans les eaux naturelles. Eyrolles Éd., Paris, 1981.

LETTERMAN R.D. Water Quality and Treatment : a handbook of community water supplies. AWWA (American Water Works Association). McGraw Hill – New York. 5th edition.1999.

LU F.C. Toxicologie, Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. MASSON. 1991.

MARGOSSIAN N. Le règlement REACH, La réglementation européenne sur les produits chimiques. Dunod/L'Usine Nouvelle. 2007.

MARTIN G. et LAFFORT P. Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Eau/Air) Vol 1. Tec et Doc. 1982.

MARTIN G. et LAFFORT P. Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Eau/Air) Volume 2/1 : bactériologie des milieux aquatiques. Tec et Doc. 1985.

MARTIN G. et LAFFORT P. Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Eau/Air) Volume 2/2 : bactériologie des milieux aquatiques. Tec et Doc. 1985.

MARTIN G. et LAFFORT P. Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Eau/Air) Vol.3 : Phosphore. Tec et Doc. 1987.

MARTIN-LAGARDETTE J.L. Vademecum de l'eau. Editions Johanet. 2008.

MASSCHELEIN W.J. Processus unitaires tu traitement de l'eau potable. CEBEDOC. 1997.

McQUARRIE C., McQUARRIE D.A. et ROCK P.A. Chimie générale. De Boeck – Bruxelles. 2007.

NEUILLY M. CETAMA (Commission d'établissement des mesures du Commissariat à l'Énergie Atomique). Précision des dosages de traces : répétabilité et limite de détection. Editions Tec et Doc. 1996.

OVERBECK J. and CHROST R.J. Aquatic microbial ecology : biochemical and molecular approaches. Springer-Verlag – New York. 1990.

PARSONS T.R., MAITA Y. and LALLI C. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press. 1992.

QUEVAUVILLER P. Métrologie en chimie de l'environnement. Editions TEC & Doc – Lavoisier. 2e édition. 2006.

RAMADE F. Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. DUNOD. 2e édition. 2002.

RAMADE F. Dictionnaire encyclopédique des pollutions, de l'environnement à l'homme. DUNOD. 2000.

RAMADE F. Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et de la biodiversité. DUNOD. 2008

RAMADE F. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau, biogéochimie et écologie des eaux continentales et littorales. DUNOD. 1998.

RAMADE F. Introduction à l'écotoxicologie, Fondements et applications. LAVOISIER TEC & Doc. 2007.

REGNAULT-ROGER C. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Editions Tec et Doc – Lavoisier. 2005.

RIPERT C. Epidémiologie des maladies parasitaires : réservoirs, vecteurs et transmission. EM Inter – Lavoisier. 1996.

ROQUES H. Fondements théoriques du traitement chimique des eaux. Technique et Documentation, 1990.

ROUESSAC F., ROUESSAC A. et CRUCHE D. Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes. DUNOD. 2004.

SCHMIDT P. Guide pratique de l'eau et de l'assainissement. Berger-Levrault Editions. 2008.

SCHWARTZBROD L. VIrologie des milieux hydriques. Technique et Documentation, 1991.

SIGG L., STUMM W. et BEHRA P. Chimie des milieux aquatiques. Elsevier Masson. 2e édition. 1994.

SKOOG D.A., HOLLER F.J. et NIEMAN T.A. Principes analyse instrumentale. De Boeck – Paris. 2003.

STUMM W. and MORGAN J.J. Aquatic Chemistry : Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. John Wiley & Sons, Inc., New York. 3rd edition. 1996.

TCHOBANOGLOUS G. and SCHROEDER E.E. Water quality : characteristics, modelling, modification. Addison-Wesley. 1985.

THOMAS O. Métrologie des eaux résiduaires. CEBEDOC CENTRE BELGE D'ETUDES ET DE DOCUMENTATION SPRL. 1995.

TONNEAU J. Tables de chimie : un mémento pour le laboratoire. De Boeck Université. 2000.

TRANCHANT J. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. MASSON. 4e édition. 1995.

VILAGINES R. Eau, environnement et santé publique : introduction à l'hydrologie. Editions TEC & Doc – EM Inter. 2e édition. 2003.

WHO (World Health Organization). Guidelines for drinking-water quality, 3rd edition incorporating 1st addendum, Volume 1. Recommendations. 2006.

Revues techniques et scientifiques traitant de problèmes liés à la qualité de l'eau

(Liste non exhaustive)

Advances in Water Resources

Analusis

Applied and Environmental Microbiology

Chemosphere

L'Eau, l'Industrie, les Nuisances

Environnement et Technique

Environment International

Environmental Science and Technology

Environmental Toxicology and Water Quality

European Journal of Water Quality (Journal Européen d'Hydrologie) *anciennement : Journal Français d'Hydrologie*

Hydroplus

Information Eaux

Journal of American Water Works Association (JAWWA)

Journal of Applied Microbiology

Journal of Bacteriology

Journal of Microbiological Methods

Journal of Environmental Monitoring

Journal Water SRT-Aqua

Limnology and Oceanography

Marine Chemistry

Ozone, Science and Engineering

Revue des Sciences de l'Eau (Journal of Water Science)

Techniques, Sciences et Méthodes *(anciennement : Techniques et Sciences Municipales)*

Water Quality International Magazine

Water Resources Management

Water Science and Technology

Water Supply

Glossaire

Abiotique : où l'on ne peut vivre.

Acidophile : qui aime les acides. Caractère de certains végétaux, des eaux pauvres en calcaire.

Aérobie : se dit d'êtres microscopiques dont la vie ne peut se poursuivre qu'en présence d'oxygène.

Aérobiontes : organismes aérobies ne prospérant qu'en présence d'oxygène.

Agent oxydant : accepteur d'électrons dans une réaction d'oxydo-réduction.

Agent réducteur : donneur d'électrons dans une réaction d'oxydo-réduction.

Anaérobie : se dit d'un organisme qui n'utilise pas de dioxygène ou un milieu privé d'oxygène ou un processus cellulaire s'effectuant en absence de dioxygène.

Anaérobiontes : organismes anaérobies prospérant qu'en l'absence d'oxygène.

Aseptique : qui n'est pas contaminé par des microorganismes.

ATP : Adénosine triphosphate. Composé qui libère de l'énergie lors de l'hydrolyse de ses liaisons phosphate, cette énergie alimentant les réactions qui ont lieu dans les cellules.

Autoépurant (pouvoir) : capacité d'un milieu à assimiler ou à détruire les polluants qui y sont déversés. Il dépend des possibilités d'oxygénation et de réoxygénation.

Autoépuration : processus naturel, biologique, chimique et physique au cours duquel un milieu pollué retrouve son état initial non pollué.

Autotrophe : se dit des organismes végétaux (plantes vertes et certains végétaux inférieurs) qui sont capables d'élaborer leurs aliments organiques à partir d'éléments minéraux.

Bactéricide : produit ou procédé ayant la propriété d'inhiber momentanément la multiplication des bactéries dans des conditions définies.

Bassin hydrographique : Un bassin est un ensemble de terres arrosées par un même réseau hydrographique, à savoir un fleuve, avec tous ses affluents et tous les cours d'eau qui les alimentent.

Benthique : fond de l'eau proprement dit comprenant la zone littorale et la zone profonde dans les eaux stagnantes, les zones marginales et la zone médiane dans les eaux courantes. La région benthique est habitée par le benthos.

Benthos : ensemble des êtres qui vivent sur le fond de la mer ou des eaux douces.

Biocénose : groupement d'êtres vivants déterminé par les propriétés du milieu et par l'interdépendance des êtres qui le composent.

Biocide : se dit d'un produit qui détruit les microorganismes.

Biomasse : quantité de matières vivantes par unité de volume, existant dans un écosystème. S'exprime en unités massiques.

Bionique : contraction de « biologie électronique » définie comme la science des systèmes dont le fonctionnement est copié, comparable ou analogue à celui des systèmes naturels.

Biotope : situation dans laquelle ou sur laquelle vit normalement une communauté, une espèce, un individu. Exemple de biotope : les herbiers à renoncules, les pierres, la vase, etc.

Catalyseur : agent chimique qui modifie la vitesse d'une réaction, tout en restant inchangé.

Catharobe (eau) : se dit d'une eau très pure.

Chimioautotrophe : qualifie un organisme qui produit ses composés organiques en oxydant des substances organiques (comme le soufre et l'ammoniac) et n'a pas besoin de la lumière.

Chimiohétérotrophe : qualifie un organisme qui se procure son énergie et son carbone en consommant des molécules organiques.

Chlorophylle : pigment vert contenu dans les chloroplastes des végétaux et dans la structure de certains organismes capables de photosynthèse.

Climax : état d'équilibre relatif dans lequel il existe des espèces susceptibles de se reproduire dans le même écosystème, en l'absence de transformations importantes.

Clone : ensemble de plantes provenant de multiplications végétatives.

Coloration de Gram : Technique de coloration permettant de distinguer 2 catégories de bactéries (Gram + ou Gram -) en fonction des caractéristiques de leur paroi cellulaire.

Compostage : mettre sous forme de compost, mélange de terre, de résidus organiques et de chaux ou de matières calcaires.

Consommateur primaire : organisme herbivore qui se nourrit de producteurs (végétaux, algues ou procaryotes photosynthétiques).

Consommateur secondaire : organisme carnivore qui se nourrit d'herbivores.

Consommateur tertiaire : organisme carnivore qui se nourrit d'autres carnivores.

Crénophile : organismes qui aiment les sources.

Crénothérapie : application thérapeutique des eaux minérales.

Crénoxène : organisme dont la présence dans les sources est fortuite.

Débit solide : éléments en suspension ou en solution, transportés par les cours d'eau.

Décontamination microbienne : action visant à éliminer les contaminants ou leurs effets indésirables en fonction des objectifs fixés. Selon l'AFNOR, on peut parler de décontamination lorsque la technique mise en œuvre a diminué le nombre de micro-organismes présent de 10^3 dans un intervalle de temps défini (abaissement de la concentration microbienne de 3 log).

Demi-vie : temps nécessaire à la disparition de 50 % de la masse initiale d'un composé.

Désinfection microbienne : opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par *milieux inertes* contaminés en fonction des objectifs fixés. Selon l'AFNOR, on peut employer le terme de désinfectant pour un produit dont l'action s'exerce de façon telle qu'en 5 minutes il soit capable, selon des essais bien définis par normalisation, d'abaisser la concentration de 5 micro-organismes tests de 10^5 (normes des 3 fois 5 : 5 micro-organismes, 5 minutes, 5 log). Il existe des normes de test des désinfectants vis-à-vis des bactéries, des levures et des spores. Par extension, on ne devrait plus employer le terme de désinfection que pour des procédés capables d'abaisser la concentration microbienne de 5 log.

Diatomées : algue microscopique dont le squelette est constitué de silice hydratée incluse dans une matrice organique.

Dulcicole ou dulçaquicole : se dit d'un organisme qui vit en eau douce.

Dystrophie : déséquilibre dans les quantités d'énergie stockées aux maillons successifs de la chaîne alimentaire, ou transmises d'un maillon au suivant.

Eau fossile : eau piégée lors du dépôt et de la consolidation des terrains sédimentaires.

Eau liée : eau fixée dont le déplacement est limité par des liaisons physiques ou physico-chimiques.

Eau plutonienne ou **juvénile :** eau originaire de la croûte terrestre.

Eau saumâtre : eau à saveur salée particulière généralement caractérisée par une teneur élevée en chlorure de sodium.

Eau souterraine : eau des couches aquifères se déplaçant ou séjournant dans les fissures ou les pores du sol.

Eau stagnante : eau dont la caractéristique est de rester immobile ou de n'avoir qu'un écoulement extrêmement limité.

Eau superficielle ou **eau de surface :** eau située à la surface du sol (océans, lacs, cours d'eau …).

Eau usée : eau ayant acquis une charge minérale ou organique en fonction de leur utilisation (eau d'égouts, eau industrielle …).

Écologie : partie de la biologie qui étudie les rapports des êtres vivants avec leur milieu naturel.

Écosystème : système caractérisé par de nombreuses populations avec des rapports de régulation et d'équilibre.

Écotype : subdivision de l'espèce linéenne liée à des conditions de milieu, mais non à une aire géographique déterminée et qui est le résultat d'une sélection par les facteurs écologiques dominants s'exerçant sur une population hétérogène.

Épilimnion : couche supérieure d'un lac, dans laquelle la diminution des températures avec la profondeur est susceptible de variations. La profondeur varie avec la saison ; elle devient nulle après l'automne.

Épiphyte : se dit d'un végétal fixé sur un autre mais non parasite (lianes par exemple).

Équivalent-habitant : notation utilisée pour caractériser la charge de pollution des effluents, quelle que soit leur origine. Mesure les rejets d'une personne humaine et correspond à 70 g de matières en suspension, 60 g/L de DBO_5 , 14 g d'azote, 4 g de phosphore et 150 L pour le volume des rejets.

Espace de tête (headspace): technique d'analyse chromatographique des composés organiques volatils ou semi-volatils présents dans un échantillon, consistant à injecter la phase gazeuse présente au-dessus d'un échantillon placé dans un flacon (un chauffage à une température convenable permet ce transfert de la phase liquide à la phase gazeuse).

Étiage et débit d'étiage : niveau minimum atteint par un cours d'eau en période sèche, débit minimum d'un cours d'eau ou d'un émissaire d'eau usée.

Euphotique : la zone euphotique est la zone comprise entre la surface de l'eau et la profondeur où il ne reste plus que 1 % de la lumière incidente. C'est dans cette zone que peut se dérouler une photosynthèse active.

Eutrophisation : un lac est dit eutrophe, ou en état d'eutrophisation, lorsqu'il possède une végétation aquatique développée, au fond vaseux riche en matières putrescibles, pauvre en oxygène, par opposition à un lac oligotrophe, aux eaux claires, pauvres en sels nutritifs et riches en oxygène.

Fluorescence : émission de lumière par des électrons excités qui reviennent à l'état fondamental en émettant des photons.

Force de Van der Waals : faible force d'attraction intermoléculaire liée aux variations de charges électroniques.

Gradient de concentration : augmentation ou diminution de la concentration d'une substance chimique dans une zone donnée.

Gram négatif : réaction négative à la coloration de Gram. Concerne les bactéries qui possèdent une paroi à structure plus complexe et contenant moins de peptidoglycane que les bactéries à Gram positif.

Gram positif : réaction positive à la coloration de Gram. Concerne les bactéries qui possèdent une paroi contenant une quantité relativement important de peptidoglycane. Groupement fonctionnel : groupement des molécules organiques leur conférant des propriétés chimiques et/ou physiques spécifiques.

Groupement hydroxyle : groupement fonctionnel OH.

Hétéroatome : se dit de tout atome autre que ceux du carbone ou de l'hydrogène.

Hétérocycle : cycle dont le squelette comporte au moins un hétéroatome.

Hétérotrophe : se dit d'un organisme qui se nourrit directement ou indirectement de substances organiques.

Hormone : substance sécrétée par une glande endocrine et exerçant une action spécifique sur le fonctionnement d'un ou plusieurs organes.

Hydrolyse : réaction chimique de décomposition des molécules sous l'influence de l'eau.

Hydrophile : se dit d'une substance qui a une affinité avec l'eau.

Hydrophobe : qualifie une substance qui ne se dissout pas l'eau et qui n'a aucune affinité avec elle.

Hypolimnion : couche inférieure d'un lac dont la température ne varie que très faiblement au cours de l'année.

Hyponeuston : organismes pélagiques vivant dans la couche ultra superficielle (10 mm environ) et qui sont soumis au plus fort impact de pollution.

Isomère : composés ayant la même formule brute, mais qui diffèrent par certaines propriétés physiques ou chimiques liées à la disposition relative des atomes constituant la molécule.

Limnigraphe : appareil de mesure pour enregistrer le débit d'un cours d'eau.

Limnologie : science qui étudie tous les phénomènes physiques et biologiques se rapportant aux lacs.

Lone : eau stagnante, en communication avec un cours d'eau. Nom donné aux bras du Rhône, près de Lyon, et qui ont été colmatés pour élever le niveau.

Lotique : s'emploie en limnologie pour opposer les eaux agitées, courantes (faciès lotique) aux eaux calmes (faciès benthique).

Mésosaprobie : se dit de la zone de pollution moyenne.

Mésotrophe : milieu dont la teneur en nutriments et la productivité en phytoplancton se situe entre l'état oligotrophe et eutrophe.

Minéralisation : Décomposition de substances organiques en des sels minéraux, du dioxyde de carbone et de l'eau.

Modulateur endocrinien : voir perturbateur endocrinien.

Niveau trophique : concerne chacun des chaînons d'une chaîne alimentaire. Regroupe les espèces d'une communauté ou d'un écosystème qui ont la même source de nourriture.

Neuston : réunion des populations aquatiques vivant et se développant au niveau de l'interface eau-air.

Oestradiol : principale hormone œstrogène de l'ovaire.

Œstrogène : hormone sécrétée par l'ovaire.

Oligosaprobies (Zone des) : se dit de la zone de pollution minimale.

Oligotrophe : milieu pauvre en éléments nutritifs.

Oxydation : perte d'électrons d'un ion simple, d'un élément ou d'une entité moléculaire participant à une réaction d'oxydo-réduction. Augmentation du nombre d'oxydation d'un élément.

Pélagique : qui a rapport à la mer (dépôt pélagique : dépôt des mers profondes).

Peptidoglycane : polymère situé dans la paroi cellulaire des bactéries et qui se compose de monosaccharides reliés par des polypeptides.

Perturbateur endocrinien : substance chimique d'origine naturelle ou artificielle susceptible de modifier le fonctionnement du système endocrinien et de provoquer des conséquences sur la reproduction ou sur le comportement. Ces substances peuvent mimer les hormones naturelles ou les bloquer et interférer sur la synthèse, le stockage, le transport dans l'organisme, le métabolisme, la fixation, l'action ou l'élimination des hormones naturelles.

Pesticide : produit destiné à lutter contre les parasites animaux et végétaux nuisibles aux cultures, aux denrées alimentaires ou aux matériaux stockés.

Photoautotrophe : se dit d'un organisme qui utilise la lumière comme source d'énergie et synthétise des composés organiques à partir du dioxyde de carbone.

Photohétérotrophe : se dit d'un organisme qui utilise la matière organique comme source de carbone et qui utilise la lumière pour produire de l'ATP.

Photolyse : dégradation d'une entité moléculaire sous l'effet d'un ou plusieurs photons d'énergie convenable.

Photosynthèse : utilisation de l'énergie lumineuse par la chlorophylle pour la synthèse d'oses (et en particulier du glucose) à partir du dioxyde de carbone de l'air et des molécules d'eau.

Plancton : ensemble de petits organismes flottant ou en suspension dans l'eau (phytoplancton et zooplancton désignent respectivement le plancton végétal et animal).

Polaire : Un groupe polaire est un groupe fonctionnel dont les caractéristiques de répartition électronique tendent à assurer à la molécule un moment électrique dipolaire notable.

Polypeptide : polymère constitué d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques.

Polyphage : qui mange beaucoup. Organisme vivant indirectement de substances les plus diverses, soit animales soit végétales.

Polysaprobie : se dit de la zone de pollution maximale, cette zone est voisine de la source de pollution.

Produits phytopharmaceutiques : voir pesticides.

Produits phytosanitaires : voir pesticides.

Protéine : Macromolécule constituée d'un ou plusieurs polypeptides.

Protistes : l'un des règnes du monde vivant, d'après certaines classifications, renfermant tous les êtres unicellulaires, à affinité animale (protozoaires) ou végétales (protophytes).

Protophytes : ensemble des végétaux unicellulaires.

Protozoaires : ensemble des animaux unicellulaires comprenant les cilliés ou infusoirs (paramécie), les flagellés (trypanozomes), les rhizopodes (amibes, foraminifères, radiolaires), l'hématozoaire du paludisme.

Réduction : Gain d'électrons d'un ion simple, d'un élément ou d'une entité moléculaire participant à une réaction d'oxydo-réduction.

Rhéophile : relatif à l'eau courante.

Saprobe : faune et flore vivant dans les milieux vaseux putrides.

Saprobionte : faune et flore vivant dans les eaux polluées.

Sapropélique : faune et flore des eaux stagnantes, sujettes à une décomposition des matières organiques et à un dégagement des produits de la décomposition (méthane …).

Saprophage : animal se nourrissant de détritus organiques.

Saprophyte : organisme végétal, né sur des substances en décomposition.

Septicité : caractères de ce qui est septique.

Septique : contaminé par des microorganismes.

Soluté : substance dissoute dans une solution.

Solution : liquide formé d'un mélange homogène de plusieurs substances.

Solution aqueuse : solution dont l'eau est le solvant.

Solution tampon : solution dont le pH varie peu lorsqu'on lui ajoute de faibles quantités d'acide ou de base, ou lorsqu'on la dilue.

SPE/Solid Phase Extraction = technique de préparation d'échantillon par extraction sur phase solide (cartouche) en amont d'une analyse chromatographique.

Spéciation : dosage et identification des différentes formes chimiques d'un élément.

Sporicide : produit ou procédé ayant la propriété de tuer les spores dans des conditions d'emploi définies.

Système endocrinien : système composé de nombreux organes du corps humain (pancréas, glandes surrénales, ovaires, testicules, thyroïde…) qui sécrètent les hormones qui diffusent dans l'organisme et maintiennent les équilibres biologiques nécessaires à la vie.

Taxon : unité systématique de n'importe quelle importance : race, espèce, genre, famille …

Thiol : composé comportant le groupe fonctionnel R-SH.

Zooglée : réunion de microbes agglutinés par une substance visqueuse.

Zooplancton : ensemble d'êtres aquatiques, dépourvus de chlorophylle (herbivores, carnassiers, mangeurs d'herbivores). Il se nourrit du phytoplancton.

Pour un glossaire plus exhaustif donnant les définitions des principaux termes scientifiques et techniques liés au domaine de l'eau, le lecteur pourra consulter le vocabulaire quadrilingue (français, anglais, allemand et russe) publié par l'AFNOR sous les indices de classement T90-501 à T 90-506.

INDEX ALPHABÉTIQUE

A

Absorbance UV 432
Interprétation des résultats 1189, 1229
Méthode instrumentale 143
Paramètre organique total 432
Absorbance UV spécifique 432
Acénaphtène 511, 514
Acénaphtylène 514
Acétaldéhyde 488, 490
Acétonitriles halogénés 492, 1203
Acide
Concentration des solutions commerciales 1444
Dosages acide/base 1445
Indicateurs colorés 1449
pH de quelques solutions pures 1447
Acide 1,2-propylènedinitrilotétraacétique 501
Acide 1,3-propylènedinitrilotétraacétique 501
Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique 556, 1324
Acide 2,4-dichlorophénoxybutanoïque 556, 1325
Acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique 556, 1325
Acide 2,4,5-trichlorophénoxypropionique ou Fenoprop 1325
Acide acétique 1444, 1447
Acide bromochloroacétique 492
Acide chlorhydrique 1444
Acide chloroacétique, voir Chloroisocyanurates
Acide dibromoacétique 492
Acide dichloroacétique 492, 1098
Acide dichloroisocyanurique, voir Chloroisocyanurates
Acide diéthylènetrinitrilopentaacétique 501
Acide éthylènedinitrilotétraacétique 501
Acide fulvique 435, 1282
Acide humique 435, 1282
Acide (méthyl, chlorophénoxy) acétique 556
Acide (méthyl, chlorophénoxy) butanoïque 556
Acide méthylglyacinediacétique 501
Acide monobromoacétique 492
Acide monochloroacétique 492, 1203
Acide nitrilotriacétique 501
Acide nitrique 1444
Acide orthophosphorique 1444
Acide peracétique
Dosage par chromatographie liquide haute performance 671
Formes chimiques et utilisations 669
Méthode volumétrique (iodométrie et manganimétrie) 670
Acides aminés 437
Acides gras volatils 1012
Acide sulfurique 1444, 1446
Acide tribromoacétique 492
Acide trichloroacétique 492, 1203
Acide trichloroisocyanurique, voir Chloroisocyanurates
Acide β-alaninediacétique 501
Acidité
Acidité forte 101
Dioxyde de carbone dissous (CO2 libre) 102
Acrylamide 475, 1204
Interprétation des résultats 1318
Actinides 392
Actinium 235 1461, 1462
Activation (analyse par) 194
Activité de la biomasse 1067
ADEME 1496
Adipate de di (2-éthylhexyle) 1208
AFSSET 1496
Agences de l'eau 1493
Agents de contraste iodés 584
Agents de surface
Agents de surface anioniques 477, 1008
Agents de surface cationiques 481, 1008
Agents de surface non ioniques 482, 1010
Interprétation des résultats 1205
Agents pathogènes (principales caractéristiques épidémiologiques) 1397, 1402
Agressivité, voir Équilibre calcolcarbonique
Agressivité d'une eau 132
Ajouts dosés 169, 177, 1481
Alachlore 536, 1312, 1323
ALARA (principe d') 1046
Alcalinité (TA-TAC) 107, 1367
Alcalinité carbonatée en eau de mer 1098
Interprétation des résultats 1207
Mesure dans l'eau de mer 1095
Méthode par flux continu 113
Méthode pH-métrique au point équivalent 111
Méthode potentiométrique 112
Méthode titrimétrique de dosage du TA et du TAC 109
Titre alcalimétrique complet (TAC) 108
Titre alcalimétrique simple (TA) 107
Aldéhydes (et chloroaldéhydes)
Aldéhydes dosables et limite de détection par CLHP 490
Aldéhydes dosables et limites de détection par CG 488
Interprétation des résulats 1208
Méthode par dérivation au DNPH et chromatographie liquide 489
Méthode par dérivation au PFBHA et chromatographie gazeuse 487
Aldrine 538, 1312, 1317
Algues
Activité phytosynthétique 952
Algues marines 917
Algues planctoniques 917
Algue verte chlorococcale 932
Cyanotoxine 911
Fluorescence algale 951
Scenenedesmus subspicatus 956
Tests de toxicité 950
Alkylbenzènes sulfonates 1205
Alkylphénols 578, 1208
Alkylsulfates 1206
Aluminium
Interprétation des résultats 1208
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 180
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 196
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite 197
Méthode par spectrométrie d'absorption

moléculaire 194
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 187, 198
Americium (Am) 394
Amiante 1211
Amibes (libres)
Culture 851
Échantillonnage 850
Observation microscopique 851, 853
Pathologie 849, 1398
Amides et phénylamides 536
Ammonium 199
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1212
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Méthode au bleu d'indophénol 199
Méthode de Nessler 204
Méthode par chromatographie ionique 204
Méthode par flux continu 202
Méthode potentiométrique 201
Méthode titrimétrique 204
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
AMPA
Dosage par chromatographie ionique 558
Interprétation des résultats 1316, 1326
Amphibiens (organismes tests) 919
Analgésiques et anti-inflammatoires 584, 1311
Analyse (représentation graphique) 602
Analyse en flux
Analyse en flux continu 149
Injection en flux continu 148
Analyses à effectuer sur site 11
Analyse UV multiparamètre 1003
Analyse virale 823
Anderson et Robinson (méthode de) 1096
Androstenedione 533
Anilides substituées 536
Anhydride arsénieux 1214
Anhydride carbonique, voir Dioxyde de carbone
Anions d'acides forts 122
Annélides (organismes tests) 918
Anthracène 511
Antibiotiques 583
Anti-épileptiques 584
Antimoine
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 205
Interprétation des résultats 1212
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 206
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 204
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure 205
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 205
AOX (et TOX)
Acides haloacétiques 492
Analyse en eau résiduaire 1012
Autres AOX 493
Évaluation globale 428, 491
Évaluation spécifique de quelques AOX 491
Interprétation des résultats 1301
Trihalométhanes 492
Argent
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 211
Interprétation des résultats 1213
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 211
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 209
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 210
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 206
Arrêté d'autorisation 1047
Arsenic
Interprétation des résultats 1214
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 215
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 215
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure 214
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 212
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 216
Artemia salina 919, 1166
Aryloxyacides 536
Aspects réglementaires, voir Réglementation
Associations impliquées dans la gestion de l'eau 1498
Atrazine 548, 551, 1328
Autoconsommation en oxygène 408
Autorité de sûreté nucléaire (ASN) 1045
Azinphos (-éthyl) 544, 1321
Azinphos méthyl 544, 1321
Azote
Azote Kjeldahl (NK) 419, 1219
Azote minéral ou inorganique 996
Azote par minéralisation au peroxodisulfate 421
Azote total et organique 418, 996
Dosage dans l'eau de mer 1138
Dosage de l'azote global par chimiluminescence après oxydation en oxydes d'azote 422
Interprétation des résultats 1220

B

Bactérie luminescente
Test d'inhibition en eau de mer 1166
Test d'inhibition en eau douce 925, 949, 956
Bactéries (organismes tests) 916
Bactéries aérobies revivifiables (germes aérobies mésophiles, hétérotrophes) 752
Méthode par ensemencement en surface sur milieu gélosé 753
Méthode par incorporation en milieu gélosé 750
Bactéries (dénombrement)
Concentration de la population bactérienne 725
Détermination du nombre le plus probable (NPP) 735
Étalement en surface 735
Filtration sur membranes 730
Limites de confiance 732, 1488
Méthodes générales de dénombrement 729
Numération après ensemencement sur gélose 733
Numération après incorporation en gélose 734
Bactéries (indicatrices de contamination) 747, 1397, 1400
Bactéries sulfato-réductrices, voir Sulfato-réductrice
Bactéries sulfito-réductrices, voir Sulfito-réductrice
Bactériophages 784
Baignades, voir Réglementation eaux de baignades
Baryum
Dosage par spectrométrie d'émission de flamme 170
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1221
Limites de détection en spectrométrie

d'absorption atomique 180
Méthode par chromatographie ionique 220
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 218
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 218
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 219
Solutions étalon pour Chromatographie ionique 163
Base
Concentration des solutions commerciales 1444
Dosages acide/base 1445
Indicateurs colorés 1449
pH de quelques solutions pures 1447
Becquerel 1346, 1459-1460
BEER-LAMBERT (loi de) 144
Bentazone 556, 1324
Benzaldéhyde 488
Benzène 494, 514, 1221
Benzo(a)anthracène 511, 514
Benzo(a)pyrène 494, 510-511, 514, 1269, 1387
Benzo(b)fluoranthène 510-511, 514, 1269, 1387
Benzo(g,h,i)pérylène 510-511, 514, 1269, 1388
Benzo(k)fluoranthène 510-511, 514, 1269, 1388
Béryllium
Interprétation des résultats 1222
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 222
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 222
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 220
Méthode par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif 188, 223
Béta-bloquants 584
Bibliographie, voir Ressources documentaires
Bicarbonate ou hydrogénocarbonate, voir TA/TAC
Biguanides 675
Bilan ionique 599
Biodégradabilité
Biodégradabilité des eaux usées 997
Essai de simulation de boues activées 998
Biodétecteurs
Activité locomotrice de la Daphnie 952
Activité photosynthétique algale 952
Comportement de nage du poisson 953
Fluorescence algale 951
Inhibition de la luminescence bactérienne 950
Mouvement des valves des moules 953
Poissons électrogènes 954
Bioessais 915
Biologie, voir Qualité biologique des eaux
Biomasse végétale planctonique 905
Biosurveillance de la qualité des eaux 867
Bismuth
Autres méthodes 224
Interprétation des résultats 1222
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 224
Bisphénol A 528, 580, 1307
Borate et Bore
Analyse en eau de mer 1109
Interprétation des résultats 1223
Méthode à l'azométhine H par spectrométrie d'absorption moléculaire 228
Méthode au carmin par spectrométrie d'absorption moléculaire 227
Méthode par flux continu 229
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 231, 617
Méthode potentiométrique directe 225
Boues activées
Activité de la biomasse 1067
Essai de simulation 998
Indice de boues 1066
Indice de Mohlman 1065
Inhibition de la respiration des boues activées 1069
Mesure respirométrique 1067
Brachydanio rerio
Organismes tests 980
Test poisson 939, 957
Break point 201, 617
BRGM 1497
Bromate
Autres méthodes 235
Interprétation des résultats 1225
Méthode par chromatographie ionique adaptée au dosage des bromates 233
Brome
Dosage par ampérométrie 664
Formes chimiques et utilisations 663
Interprétation des résultats 1264
Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) 664
Bromobenzène 508
Bromochlorométhane 492, 508
Bromodichlorométhane 492, 508
Bromoforme (tribromométhane) 492, 508
Bromométhane 508
Bromophos (-éthyl) 544
Bromophos méthyl 544
Bromoxynil 556
Bromure, voir Brome
Analyse en eau de mer 1109
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1224
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Méthode par chromatographie ionique 238
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 236
Méthode potentiométrique 238
Réaction avec le chlore 619
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
BTEX 494, 506, 1264
Bulletin d'analyse 603

C

Cadmium
Interprétation des résultats 1226, 1384
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 241
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 242
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 239
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 188, 243
Calcium
Dosage par spectrométrie d'émission de flamme 170
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159
Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA 249
Interprétation des résultats 1228, 1253
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 180
Méthode par chromatographie ionique 250
Méthode par spectrométrie d'absorption

atomique avec flamme 247
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 188, 248
Méthode titrimétrique à l'EDTA 244
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Campylobacter jejuni 787, 1397
Capacité d'oxygénation 1063
Capteurs
Activité locomotrice de la Daphnie 952
Activité photosynthétique algale 952
Comportement de nage du poisson 953
Fluorescence algale 951
Inhibition de la luminescence bactérienne 950
Mouvement des valves des moules 953
Poissons électrogènes 954
Stations d'alerte 955
Caractère entartrant d'une eau 132
Caractères organoleptiques 35, 40
Carbamates 536, 1322
Carbaryl 1322
Carbofurane 1322
Carbonate 252
Analyse dans les dépôts 1125
Détermination en eau de mer 1171
Dosage du carbone minéral 251
Interprétation des résultats 1207
Méthode par dosage du TA-TAC 251
Carbone 14 399
Carbone minéral total
Détermination en eau de mer 1098
Dosage du carbone minéral 115, 251, 409
Méthode d'évolution 115
Méthode instrumentale 118
Carbone organique dissous biodégradable
Interprétation des résultats 1230
Méthode par bactéries en suspension 416
Méthode par bactéries fixées 413
Carbone organique total
Détermination dans l'eau de mer 1142
Détermination dans les eaux naturelles 409
Détermination dans les eaux usées 994
Interprétation des résultats 1229
Cations
Analyse dans l'eau de mer 1125
Analyse dans les eaux naturelles 141
Analyse dans les dépôts 1171
Méthodes instrumentales 142
CEA 1497
CEMAGREF 1497
Centrale de retraitement 1051
Cérium 1230
Césium
Césium radioactif 251, 399, 1231
Césium stable 1230
Interprétation des résultats 1230
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 252
Méthode au phosphomolybdate d'ammonium 251
Méthode du iodobismuthate de césium 251
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 251
Chloral (Hydrate), voir Hydrate de chloral 1232
Chloramines 616
Chlorate
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 254
Interprétation des résultats 1232
Méthode par chromatographie ionique 256
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 252
Méthode titrimétrique 254
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Chlordane 1318
Chlordécone 538, 1318
Chlore 616
Analyse des solutions concentrées 620
Chimie du chlore et des chloramines 616
Chlore actif 618
Chlore libre actif 618
Chlore libre potentiel 618
Demande en chlore 637
Dosage du chlore résiduel total 622
Interprétation des résultats 1232
Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) 625
Méthode à la syringaldazine 634
Méthode à l'orthotolidine 622
Méthode à l'orthotolidine/arsénite 632
Méthode ampérométrique 635
Méthode iodométrique 622
Méthode spectrométrique à la DPD 629
Méthode titrimétrique à la DPD 626
Pouvoir désinfectant 619
Sous-produits de désinfection 614
Chlorfenvinphos 544
Chlorinité 1087
Chlorite
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 257
Interprétation des résultats 1235
Méthode par chromatographie ionique 256
Solutions étalon pour chromatographie ionique 497
Chloro-2 phénol 573, 1237
Chloro-2 toluène 508
Chloro-4 toluène 508
Chloroacétique acide, voir acide di- et tri-chloroacétique
Chloroalcanes 1388
Chlorobenzène
Interprétation des résultats 1235
Méthode par chromatographie de l'espace de tête 497
Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide 508
Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique, puis chromatographie gazeuse 508
Chloroforme (trichlorométhane)
Dosage par chromatographie en phase gazeuse 508
Interprétation des résultats 1301
Sous-produits de désinfection 492, 614
Chloroisocyanurates
Dosage dans les eaux de piscines 673
Dosage de l'acide isocyanurique en présence de chlore libre 675
Dosage par chromatographie ionique 674
Dosage par néphélométrie 673
Formes chimiques et utilisations 672
Chlorométhane 492
Chlorophénols, voir Phénols
Chlorophylle
Dosage des chlorophylles a et b par HPLC 906, 1157
Dosage par spectrofluorimétrie 1156
Dosage par spectrométrie d'absorption moléculaire 907, 1154
Chloropicrine 492, 1238
Chlorosité 1088
Chlorphenothion 544
Chlorphyriphos (-éthyl) 544
Chlorphyriphos méthyl 544
Chlortoluron 552, 1324
Chlorure
Dosage dans l'eau de mer 1088

Interprétation des résultats 1238
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Méthode de Charpentier-Volhard 258
Méthode de Mohr 257
Méthode par chromatographie ionique 261
Méthode par flux continu 259
Méthode potentiométrique et coulométrique 259
Solutions étalon pour chromatographie ionique 498
Chlorure de méthylène, voir Dichlorométhane
Chlorure de vinyle 498
Interprétation des résultats 1240
Méthode par chromatographie de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide 498, 515
Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse 498
Chromate 262
Chromatographie
Chromatographie gazeuse 465
Chromatographie liquide haute performance 472
Comparaison des différents types de détecteurs en CG 471
Phases stationnaires de colonnes capillaires 468
Principes 460
Chromatographie ionique (CI)
Détection conductimétrique 157
Dosage simultané d'anions ou de cations 157
Éluants usuels 160
Matériel utilisé 154
Mécanisme de la séparation des ions 153
Méthodes d'analyse d'anions ou de cations, conditions de travail et interférences 159
Préparation de solutions étalon 162
Principe 152, 460
Suppression d'ions 156
Chrome
Chrome hexavalent par spectrométrie d'absorption avec flamme 264
Chrome hexavalent par spectrométrie d'absorption moléculaire 262
Chrome hexavalent par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 264
Chrome total par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 267
Chrome total par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 268
Chrome total par spectrométrie d'absorption moléculaire 266
Chrome total par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 269
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 188
Interprétation des résultats 1240
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Circuits de refroidissement 1369
Cis-dichloro-1,2 éthylène 271
Classification des éléments 1429
Clostridium perfringens (spores) 776
Clostridium sulfito-réducteurs (spores) 775
Cobalt
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 273
Interprétation des résultats 1241
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 270
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 271
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 272
Coliformes 754
Classification 754
Dénombrement par ensemencement en milieu liquide (NPP) en microplaques 764
Méthode de dénombrement par filtration sur membrane 756
Méthode de détermination du nombre le plus probable (NPP) par inoculation de tubes en milieux liquides 761
Méthode simplifiée pour le dénombrement 766
Colloïdes, voir Particules en suspension 47
Comité de l'AEN de protection radiologique et de santé publique (CRPPH) 1046
Complexants
Complexants dosables et limites de détection par CG 501
Dosage du NTA par spectrométrie d'absorption moléculaire 498
Méthode par chromatographie gazeuse 500
Interprétation des résultats (NTA) 1296
Complexes enzymatiques photosynthétiques 949
Composés ionisés et réducteurs à base de soufre 592
Composés N-nitrosés 526, 1299
Composés organohalogénés, voir AOX
Composés phosphorés, voir Phosphore
Composés soufrés, voir Soufre
Composition des eaux usées 968
Conductivité électrique
Conductivité équivalente et conductivité réelle 83
Conductivité permanente 83
Facteur de correction de température 80
Interprétation des résultats 1242
Mesure de la conductivité électrique 78
Mesure en eau de mer 1092
Minéralisation globale de l'eau 84
Variation de la conductivité à 20 °C en fonction de la nature des sels et de leur concentration 85
Connexions hydrauliques
Analyse des traceurs 21
Critères de choix des traceurs 15
Interprétation des essais de traçage 22
Principaux traceurs 16
Traceurs fluorescents 17
Traceurs radioactifs 19
Conservation des prélèvements 3, 8, 727
Constante de Henry 63
Contrôle de la désinfection 611
Contrôle des résultats de l'analyse d'eau 599
Couleur
Interprétation des résultats 1244
Méthode au platine-cobalt 278
Méthode par comparaison avec des disques colorés 279
Critères globaux de pollution 403, 971
Crotonaldéhyde 488
Crustacés, voir Daphnies
Cryptosporidiose 839, 1398
Cryptosporidium parvum 839, 840, 846, 1398
Cuivre
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 277
Interprétation des résultats 1244
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 275
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 276

Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 273
Curie 1460
Curium (Cm) 394
Cyanogène (chlorure) 1246
Cyanate, voir Cyanure
Cyanotoxines 911
Cyanure
Dosage dans les eaux naturelles 278
Dosage dans les eaux résiduaires 1014
Dosage dans les eaux usées 1013
Dosage en eau de mer 1110
Interprétation des résultats 1246

D

Daphnies
Essai de laboratoire 937, 1165
Essai sur site 949, 952
Organismes tests 919
DBO, voir Demande biochimique en oxygène
DCO, voir Demande chimique en oxygène
DDE *o, p'* 538
DDE *p, p'* 538
DDT 539, 1319
Débits (mesure des) 25
Déversoir rectangulaire en mince paroi sur un canal 28
Déversoir triangulaire en mince paroi 29
Jaugeage au moulinet 26
Jaugeage capacitif 25
Jaugeage par dilution 29
Jaugeage par exploration du champ de vitesses 25
Limnigraphe à flotteur 24
Limnigraphe « bulle à bulle » 24
Limnimètre 24
Utilisation de sondes électromagnétiques 31
Decanal 488, 1208
Degré Baumé 1434
Degré Celsius 1434
Degré chlorométrique 620
Degré Fahrenheit 1434
Degré français 598
Degré hydrotimétrique, voir TH
Degré sulfhydrométrique 592
Demande biochimique en oxygène (DBO)
Analyse dans les eaux naturelles 407
Courbe de DBO pour un effluent urbain 979
Détermination dans l'eau de mer 1142
Interprétation des résultats 1247
Méthode par dilution 980
Méthodes respirométriques 985
Demande chimique en oxygène (DCO) 986
Détermination dans l'eau de mer 1242
Interprétation des résultats 1247
Méthode à petite échelle en tube fermé 992
Méthode à reflux en système ouvert 987
Demande d'autorisation de rejets 1047
Demande en oxydant
Demande en chlore 637
Demande en dioxyde de chlore 654
Demande en ozone 662
Demande totale en oxygène (DTO) 995
Démarche d'évaluation des risques 1195
Caractérisation des risques 1198
Estimation des expositions 1198
Identification des dangers 1197
Relation dose-effets pour les dangers mis en évidence lors de la première étape 1197
Dénombrement des microorganismes (table de limite de confiance) 732, 1487
Dénombrement en milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (NPP) 735
Dépôt 1171
Déséthylatrazine 548, 1328
Désinfection
Abattement des germes 612
Choix des désinfectants 615
Concept de Ct 612
Demande en oxydant 613
Inactivation des microorganismes 611
Loi de CHICK-WATSON 611
Sous-produits de désinfection 614
Désisopropylatrazine 548, 1328
Détergent, voir Agents de surface
Di(2-éthylhexyl)phtalate 1334
Diagramme à barres 602
Dialkylétain 527, 1253
Diatomées 871, 888
Diazinon 544, 1321
Diazométhane 556
Dibenzo (a, h) anthracène 508
Dibromo-1,2 éthane 508
Dibromoacétonitrile 517
Interprétation des résultats 1232
Dibromochlorométhane 517, 1301
Dibromochloropropane 517
Dibromométhane 518, 1268
Dichloro-1,1 acétone
Interprétation des résultats 1268
Dichloro-1,1 éthane 508, 517, 1267
Dichloro-1,1 éthylène 492, 508
Interprétation des résultats 1384
Dichloro-1,1 propylène 508
Dibromo-1,2 éthane 508
Dichloro-1,2 benzène 508
Dichloro-1,2 éthane
Analyse par chromatographie gazeuse 508
Interprétation des résultats 1384
Méthode par chromatographie de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide 503
Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse 503
Dichloro-1,2 propane 508, 517, 1266
Dichloro-1,3 benzène 508, 1235
Dichloro-1,3 propane 508, 517, 1266
Dichloro-1,4 benzène 508, 1301
Dichloro-2,2propane 508
Dichloro-2,4 phénol 574, 1237
Dichloroacétonitrile 492, 1203
Dichlorodifluorométhane 508, 1301
Dichloroéthylène 508, 1265
Dichloroisocyanurate de sodium, voir Chloroisocyanurates
Dichlorométhane 508, 1301
Dichloropropylène 508, 1265
Dichlorprop 556, 1325
Dichlorvos 544
Dichromate de potassium 1453
Dieldrine 538, 1317
Diéthylstibestrol 532, 1307
Diméthoate 544
Dinitroanilines 536
Dioxines 503, 1250
Dioxyde de carbone (anhydride carbonique)
CO2 libre 74
Détermination en eau de mer 1098
Dioxyde de carbone dissous (CO2 libre)
Dioxyde de carbone libre par la méthode graphique 74
Dioxyde de carbone libre par la méthode titrimétrique 74
Dioxyde de chlore
Analyse des solutions concentrées 641

Chimie et réactivité du dioxyde de chlore 639
Demande en dioxyde de chlore 654
Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) 649
Méthode ampérométrique 652
Méthode spectrométrique à l'Alizarine Violet 3R 645
Méthode spectrométrique à l'amarante 647
Préparation des solutions mères 640
Direction Générale Environnement 1047
DIREN 1494-1495
Dithiocarbamates 536, 1323
Diuron 552, 1325
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 157
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 157
Dose Maximale Sans Effet Nocif Observable 1199
DRAF 1494-1495
DRASS 1494, 1496
DRE 1494-1495
Dreissena polymorpha 918, 953
DRIRE 1494-1495
Dureté
Dureté calcique 121
Dureté totale 119
Interprétation des résultats 1251

E

Eau de Javel 620
Eau de mer
Azote organique 1138
Bio-essais *in situ* 1167
Constituants organiques 1137
Eau de mer artificielle 1095
Indicateurs biologiques 1167
Prélèvements 1080
Salinité 1087
Eau destinée à la consommation humaine 1403
Eau régale 1444
Eaux de baignades aménagées en eau vive : mer, rivière 1406
Eaux de piscine 1408
Eaux destinées à des utilisations agricoles 1409
Eaux destinées à la conchyliculture 1409
Eaux minérales françaises 1455
Eaux résiduaires
Activité de la biomasse 1067
Analyse UV multiparamètre 1003
Approches analytiques 969
Biodégradabilité des eaux usées 997
Composition des eaux usées 968
Critères globaux de pollution 971
Eaux résiduaires industrielles 969
Équivalent habitant 968
Essai de simulation de boues activées 998
Flux de pollution 968
Indice de boues 1066
Indice de Mohlman 1065
Matières décantables 976
Matières en solution 975
Matières en suspension 974
Matières sèches 976
Matières totales 976
Mesure respirométrique 1067
Spectre UV d'une eau résiduaire urbaine 1004
Turbidité 975
Eaux thermales 1408
Écotoxicologie 867
EDTA (acide éthylènediamine tétracétique) 498, 501, 1253
Électrode « au calomel » 99
Électrodes ioniques spécifiques 190
Éléments à l'état de trace dans l'eau de mer
Concentration par cocristallisation 1127
Concentration par coprécipitation 1130
Concentration par extraction liquide-liquide 1129
Concentration par résines 1132
Détermination par polarographie à redissolution anodique 1133
Détermination par spectrométrie d'absorption atomique 1133
Endosulfan 538
Endrine 538, 1320
Interprétation des résultats 1320
Entartrage, voir Équilibre calcocarbonique 125
Enterococcus
Classification 768
Identification 775
Méthode par ensemencement en milieu liquide (NPP) sur microplaque 772
Méthode par ensemencement en milieu liquide pour détermination du nombre le plus probable (méthode en tubes) 770
Méthode par filtration sur membrane 769
Entérovirus 823, 832
Enterovirus dans les boues 832, 1398
Éosine, voir Connexions hydrauliques 18, 19
Épichlorhydrine 504
Épifluorescence 747
Équilibre calcocarbonique
Aspects théoriques de l'équilibre calcocarbonique 128
Calculs d'équilibre calcocarbonique (données analytiques nécessaires aux) 127
Diagramme de LEGRAND et POIRIER 134
Différentes méthodes 126
Éléments caractéristiques 131
Éléments fondamentaux 131
Évolution de l'eau sous l'effet d'un traitement 137
Indice de LANGELIER 132
Mélange d'eaux 139
Méthode de HALLOPEAU et DUBIN 132
Relations entre des éléments dissous et des éléments d'une autre phase 129
Relations entre les concentrations des éléments dissous 128
Equitox 922, 1164
Équivalent-gramme 597
Équivalence (notion d') 597
Erreur aléatoire 1470
Erreur systématique 1468
Escherichia coli, voir Coliformes
Estradiol (17α) 529, 532, 1307
Estriol 528, 533, 1307
Estrone 528, 533, 1307
Étain
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 278
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 279
État écologique des eaux 866
Éthinyl-estradiol (17α) 529, 1307
Éthylbenzène 494, 508, 1221
Éthymologie des éléments 1439
Exactitude 1486
Examen microscopique (d'un dépôt) 1171

F

Fenithrotion 544
Fenoprop 556
Fenpropimorphe 549
Fenthion 544
Fer
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 188
Interprétation des résultats 1255
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 282
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme après complexation et extraction 284
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 283
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 281
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 285
Fidélité 1470, 1486
Flaveur, voir Goût 40
Flore aquatique 871
Fluor, voir Fluorures
Fluoranthène 511, 514, 1388
Fluorène 511
Fluorescéine, voir Connexions hydrauliques 17, 18
Fluorescope 51
Fluorure
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1257
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Méthode par chromatographie ionique 297
Méthode par flux continu 293
Méthode par spectrométrie d'absorbtion moléculaire à l'alizarine et au nitrate de lanthane 291
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au zirconium et ériochrome-cyanine R 286
Méthode potentiométrique 294
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Formaldéhyde 488, 1208

G

Gallium
Interprétation des résultats 1261
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif 297
Gaz dissous (gaz de l'eau)
Constante de Henry 64
Dosage des gaz totaux 64
Solubilité des gaz dans l'eau 63
Génotoxicité, voir Toxicité
Germanium
Interprétation des résultats 1261
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif 298
Germes totaux
Dénombrement par épifluorescence 747
Gestion de l'eau (acteurs) 1493
Giardia lamblia 839-840, 846, 848, 1398
Giardiose 839, 1398
Glyoxal 488, 1208
Glyphosate 558, 1326
Goût
Définition 40
Dégustation 41
Nature de la saveur ou du goût 42
Saveur 43
Graisses 1033, 1262
Gray 1346, 1459

H

Haloformes, voir Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils
Halométhanes, voir Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils
Interprétation des résultats 1262
HALLOPEAU et DUBIN (méthode de) 132
HAP, voir Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Hauteurs d'eau (mesure de débits)
Limnigraphe à flotteur 24
Limnigraphe « bulle à bulle » 24
Limnimètre 24
HCH, voir Hexachlorocyclohexane
Helminthes (œufs d')
Dénombrement dans les boues résiduaires 1057
Dénombrement dans les eaux ésiduaires 1055
Infections transmissibles par l'eau 1399
Henry (loi de) 63, 130
Heptachlore 538, 1320
Heptachlorépoxyde 538, 1320
Heptanal 488, 1208
Hexachlorobenzène 539, 1235, 1384
Hexachlorobutadiène 508, 517, 1384
Hexachlorocyclohexane 538, 1320, 1384
Hexachloroéthane 517
Hexanal 488
Hexazinone 552
Hormones, voir Perturbateurs endocriniens de type œstrogéniques
Huiles 1033, 1262
Huiles émulsifiées 1029, 1262
Humiques (substances) 432, 1282
Hydrate de chloral 492, 1232
Hydrazine 1031, 1262
Hydrocarbures 1033, 1263
Hydrocarbures aromatiques monocycliques
Hydrocarbures aromatiques monocycliques dosables par CG 506
Interprétation des résultats 1264, 1364
Méthode par chromatographie de l'espace de tête 507
Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse 506
Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Dosage dans les sédiments 1178
Dosage des HAP par extraction liquide-liquide puis par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse 513
Dosage des HAP par extraction puis par chromatographie liquide avec détection par fluorescence 510
HAP dosables par CG/SM et fragments caractéristiques 514
HAP dosables par HPLC et limites de détection 511
Interprétation des résultats 1269, 1387
Hydrocarbures benzéniques 506, 1264
Interprétation des résultats 1264
Hydrocarbures chlorés aliphatiques 517, 1265
Hydrocarbures halogénés aliphatiques volatils 515
Hydrocarbures halogénés dosables par CG et limites de détection 517
Interprétation des résultats 1265, 1301
Méthode par chromatographie de l'espace de tête ou après extraction liquide-liquide

515
Méthode par dégazage, piégeage et désorption thermique puis chromatographie gazeuse 519
Trihalométhanes 506, 508
Hydrocarbures totaux
Dosage des résidus dans les sédiments 1180
Interprétation des résultats 1263
Méthode par chromatographie gazeuse 520
Méthode par spectrométrie infra-rouge 520
Hydrogène sulfuré 589, 1366
Hydrogénocarbonates, voir Alcalinité
Hydrotimétrie 1271
Hydroxy-2 atrazine 1328
Hydroxyde de sodium 1450

I

ICP (Inductively Coupled Plasma), voir Spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction
IFREMER 1497
Indéno (1,2,3-cd) pyrène 510-511, 1269, 1388
Indicateurs colorés 87, 91, 1449
Indice de boues 1066
Indice de Mohlman 1065
Indice de sulfuration 592
Indice hydrocarbure, voir Hydrocarbures totaux
Indice permanganate (IP) 404, 995, 1303
Indice phénol 570, 1330
Indices biologiques
Indice biologique diatomique (IBD) 871, 888
Indice biologique global adapté aux grands cours d'eau 884
Indice biologique global normalisé 871-872
Indice biologique macro invertébrés 878
Indice biologique macrophytique 871, 897
Indice oligochète 871, 893
Indice poisson rivière 871, 901
Indices de colmatage 57
Fouling Index 58
Indice de colmatage FI (Fouling Index) 58
Indice de colmatage MFI (Modified Fouling Index) 60
Modèles de colmatage des pores 58
Indium
Indium radioactif 1272
Indium stable 1272
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif 298
INERIS 1498
Infiltrations, voir Connexions hydrauliques
INRA 1498
Installations nucléaires de base (INB) 1045
Invertébrés aquatiques 876
Iode
Dosage par ampérométrie 664
Formes chimiques et utilisations 663
Interprétation des résultats 1273
Iode radioactif 1277
Iode stable 1273
Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) 664
Préparation d'une solution titrée 1454
Iodure 299
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Méthode par chromatographie ionique 302
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 299
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif associé à un spectromètre de masse 301
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Iso-4 propyltoluène 508
Iso-propylbenzène 508
Isochloridazone 549
Isocyanurique, voir Chloroisocyanurates
Isoproturon 552, 1327

L

LANGELIER (indice de) 132
Lanthanides 1278
Legionella et *Legionella pneumophila*
Affections en relations avec l'eau 1397
Méthode par ensemencement direct ou filtration sur membrane 789
Législation, voir Réglementation
LEGRAND et POIRIER (diagramme de) 134
Légumineuses 917
Lentilles d'eau 917
Leptospires 794, 1397
Levonorgestrel 533
Levures 916
Limite de détection 391
Limites de confiance pour le dénombrement des micro-organismes 1487
Limite de toxicité de certains produits 1390
Lindane 538, 1320
Linuron 552
Lithium 302
Dosage par spectrométrie d'émission de flamme 170, 302
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 163
Interprétation des résultats 1279
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par chromatographie ionique 304
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 303
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 188, 304
L'Office de Protection contre les Rayonnements Ionisants (OPRI) 1048
Lois sur l'eau 1421
Luminescence, voir *Vibrio fischeri*

M

Macrocrustacés 919
Macroinvertébrés 871
Macrophytes 897
Macrophytes émergents 917
Magnésium 305
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1253, 1280
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 180
Méthode par chromatographie ionique 307
Méthode par hydrotimétrie 307
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 305
Méthode par spectrométrie d'émission avec flamme 307
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 188, 306
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Maladies d'origine hydrique 1193
Malathion 544
Manganèse 308, 1171
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 188

Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1281
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par chromatographie ionique 312
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 310
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 311
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 308
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 311
Recherche dans les dépôts 1171
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Masses atomiques relatives 1438
Matériel de prélèvement 721
Appareils de prélèvement 722
Choix et stérilisation des récipients 721
Matière organique dans les dépôts 1171
Matière organique naturelle 434
Analyse chromatographique de classes de composés organiques : acides aminés et sucres 437
Fractionnement de la matière organique des eaux par filtration sur résines XAD 435
Interprétation des résultats 1282
Nature de la MON 434
Matières décantables 46, 976
Matières en solution 975
Matières en suspension 47
Examen microscopique du dépôt 49
Interprétation des résultats 1284
Méthode par centrifugation 48, 974
Méthode par filtration sur fibre de verre 47, 974
Méthode par ultra-centrifugation 49
Matières humiques 432, 1282
Matières inhibitrices 1003, 1163
Matières organiques extractibles 1033
Matières oxydables 973
Matières sèches 976
Matières totales 976
Mecoprop 556, 1325
Médecine nucléaire (effluents radioactifs) 1053
Meilleures techniques disponibles (MTD) 1046
Mélanges réfrigérants 1455
Mémento chimique 1435
Mercaptans 525, 1285
Mercure 312
Analyse dans les sédiments 1177
Dosage du mercure organique 320
Dosage du mercure total par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation au brome 316
Dosage du mercure total par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme après minéralisation au permanganate péroxodisulfate 313
Dosage du mercure total par spectrométrie de fluorescence atomique 318
Interprétation des résultats 1285
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Mestranol 532
Mesure respirométrique 1067
Métabolites de triazines 536
Métaux lourds 1034
Métazachlore 549
Méthabenthiazuron 552
Méthodes instrumentales pour l'analyse des cations et des anions 142
Analyse en flux 148
Analyse par activation 194
Chromatographie ionique (chromatographie ionique) 152
Électrodes ioniques spécifiques 190
Potentiométrie 190
Spectrométrie d'absorption atomique (SAA) 172
Spectrométrie d'absorption moléculaire 143
Spectrométrie d'émission de flamme (ou photométrie de flamme) 166
Spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction 182
Méthodes instrumentales pour l'analyse des micropolluants organiques 440
Autres techniques d'extraction 453
Chromatographie 460
Dérivation 442
Étalons internes 460
Évaporation et reprise 454
Exemples de dérivation pré-colonne 443
Extraction liquide/liquide « off line » 444
Extraction sur phase solide « off line » 446
Facteur d'enrichissement et rendement 455
Préparation de l'échantillon au prélèvement 440
Principaux supports pour extraction sur phase solide (et purification) 451
Purification de l'extrait (ou de l'éluat) 452
Séchage 454
Techniques en ligne avec la chromatographie 455
Méthoxychlore 539
Méthylglyoxal 488, 1208
Méthyl parathion 544, 1322
Métobromuron 552
Métolachlore 549, 1327
Métox 969, 1002
Métoxuron 552
M et p-Xylène 508
Mevinphos 544
Microbiologie (risques de contamination) 1395, 1397
Microcrustacés 919
Microcystine LR 523, 911
Micro-organismes indicateurs de pollution 1400
Micropolluants organiques 439, 1193
Microtox 916, 956
Minéralisation d'une peau 84, 602, 1289
Mohlman, voir Indice de Mohlman
Molarité 598
Mollusques bivalves 950
Mollusques d'eau douce 918
Mollusques marins 918
Molybdène
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 323
Interprétation des résultats 1291
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométire d'absorption atomique avec four graphite 322
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 323
Monochloroacétaldéhyde 490, 1208
Moule zébrée, voir Dreissena polymorpha
Multiples et sous-multiles d'unités 1431
Mutagénicité, voir Toxicité

N

Naphtalène 511, 514, 1387
N-butylbenzène 508, 1264
Neptunium (Np) 394
NERNST (expression de) 92
Nickel 324, 1002
Interprétation des résultats 1292, 1389

Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 324
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 325
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 188, 325
Nitrate
Apport alimentaire 1295
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1293
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Méthodes d'élimination 1296
Méthode par chromatographie ionique 333
Méthode par flux continu 330
Méthode par réduction au cadmium 329
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 327
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Nitrilotriacétate de sodium, voir NTA
Nitrite
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Formation de nitrosamines 1299
Interprétation des résultats 1297
Méthémoglobinémie 1298
Méthode par chromatographie ionique 336
Méthode par flux continu 335
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 333
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Nitrophénols 536, 576
Nitrosamides 1299
Nitrosamines (NDMA)
Analyse par chromatographie en phase gazeuse 520
Interprétation des résultats 1299
Relation avec l'ion nitrite 1298, 1299
NK, voir Azote Kjeldahl
Nonanal 488, 1208
Nombre le plus probable (NPP) 735
Nonyl-4 phénol 579, 1310
Nonylphénols 578, 1205, 1388
Norethindrone 533
Normalité 597, 598
N-propylbenzène 508
Nucléaire (installation) 1045

O

Octanal 488, 1208
Octylphénols 579, 1388
Odeur
Interprétation des résultats 1300
Liste des principaux groupes d'odeurs types 39
Principe de détermination 35
Oligochètes 871, 893
ONEMA 1498
Or 1301
Organismes et associations 1495, 1498
Organochlorés 536
Organochlorés volatils, voir Hydrocarbures aliphatiques halogénés volatils
Organophosphorés 536
Organostanniques 527, 1253
Orthophosphate, voir Phosphate
Othophosphate, voir Phosphore
Oxydabilité au permanganate 404, 995, 1303
Oxygène dissous
Dosage dans l'eau de mer 1145
Méthode électrochimique 68, 1147
Méthode volumétrique (méthode de Winkler modifiée par Alsterberg) 65, 1145
Tables de solubilités de l'oxygène dans l'eau 69
O-xylène, voir Xylène
Ozone
Chimie de l'ozone 654
Demande en ozone 662
Dosage de l'ozone dans l'air ozoné 655
Dosage de l'ozone dans l'eau 658
Interprétation des résultats 1305
Méthode à la N, N-diéthylphénylène-1,4 diamine 661
Méthode iodométrique 659
Méthode à l'indigotrisulfate 660

P

Paramètres microbiologiques 1193
Paramètres organiques globaux 403
Paraoxon 1322
Paraquat 1327
Parasites 839, 842, 846
Concentration 840, 842
Description des pathogènes 840
Épidémies 839
Identification et dénombrement 846
Récupération (réaction IMS) 845
Parasites (recherche des)
Domaine d'application 840
Échantillonnage 841
Prélèvement 841
Première concentration sur cartouche filtrante 842
Principe de la méthode 841
Parathion 544, 1322
Parathion (éthyl) 544
Parathion (méthyl) 544
Particules en suspension 45
PCB, voir Polychlorobiphényles
PCR (Polymerase Chain Reaction) 837
Pêche électrique 901
Pendiméthaline 549
Pentabromodiphényléther 1388
Pentachlorobenzène 539, 1388
Pentachloronitrobenzène 539
Pentachlorophénol 574, 1237, 1384
Pentanal 488, 1208
Période radioactive 1460
Permanganate de potassium, voir Indice permanganate
Dosage de l'acide oxalique 1449
Dosage par le sulfate ferreux 1452
Dosage par le thiosulfate de sodium 1453
Perméthrine 1327
Peroxyde d'hydrogène
Formes chimiques et utilisations 664
Méthode au sel de titane (méthode d'EISENBERG) 667
Méthode iodométrique 665
Méthode manganimétrique 666
Perturbateurs endocriniens de type oestrogéniques
Analyse chromatographique 508
Bisphénol A 1311
Concentrations retrouvées dans les eaux de surface 1311
Élimination en traitement des eaux potables 1312
Hormones stéroïdiennes 1309
Nonylphénol 1309
Principaux protocoles de dérivation des dérivés hormonaux 531
Principaux protocoles pour l'extraction SPE des dérivés hormonaux 530

Rapports m/z des ions ou transitions MRM et limite de détection en GC/MS et GC/MS2 532
Rapports m/z des ions ou transitions MRM et limite de détection en LC/MS et LC/MS2 533
Pesticides et apparentés
Acides phénoxyalcanoïques par chromatographie gazeuse 554
Aminotriazole par chromatographie gazeuse 561
Aminotriazole : interprétation des résultats 1323
Campagne analytique 1316
Carbamates 1322
Classification des pesticides en fonction de leur famille chimique 536
Composés organo-azotés dosables par CG 548
Composés organo-azotés dosables par CLHP 552
Composés organo-chlorés dosables par CG 538
Composés organo-phosphorés dosables par CG 544
Esters d'acides phénoxyacétiques dosables par CG 556
Familles de pesticides 536, 1313
Glyphosate et AMPA 1326
Glyphosate et AMPA par chromatographie liquide 558
Herbicides : interprétation des résultats 1323
Insecticides organochlorés : interprétation des résultats 1317
Interprétation des résultats 1312
Limites de toxicité dans l'eau de certains produits organiques 1323
Méthode multi-résidus par chromatographie liquide 565
Méthodes multi-résidus par chromatographie gazeuse 561
Organochlorés par chromatographie gazeuse 537
Organophosphorés (et organothiophosphorés) par chromatographie gazeuse 542
Pesticides dosables par méthode multi-résidus (CG) 562
Pesticides dosables par méthode multi-résidus (CLHP) 566
Phénylurées (et triazines) par chromatographie liquide 551
Toxicité des pesticides 1317
Triazines par chromatographie gazeuse 547
*p*H
Détermination dans l'eau de mer 1085
Détermination dans les sédiments 1175
Interprétation des résultats 1329
Méthode colorimétrique 87
Méthode potentiométrique avec électrode de verre 92
*p*H de quelques solutions pures 1447
Pharmaceutiques (résidus), voir Résidus pharmaceutiques
Phénanthrène 511, 1269
Phénols 1037
Analyse dans les eaux résiduaires 1037
Alkylphénols 578
Alkylphénols dosables par CG 579
Bisphénol A 580
Chlorophénols dosables par CG 573
Chlorophénols par chromatographie gazeuse 573
Chlorophénols par chromatographie liquide haute performance 576
Indice phénol 570
Interprétation des résultats 1330
Méthode par spectrométrie infra-rouge 573
Nitrophénols dosables par CG 577
Nitrophénols par chromatographie gazeuse 576
Nonylphénols 578
Phéopigments, phéophytine
Dosage par spectrométrie d'absorption moléculaire 907, 1159
PHMB, voir Polyhexaméthylène biguanide
Phosalone 544
Phosphate
Détermination des phosphates hydrolysables 424
Dosage dans l'eau de mer 1145
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1332
Méthode par chromatographie ionique 341
Méthode par flux continu 339
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 337
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Phosphore 997
Détermination des phosphates hydrolysables 424, 1117
Détermination du phosphore total et du phosphore organique 425, 997, 1115
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 96
Interprétation des résultats 1337
Photométrie de flamme, voir Spectrométrie d'émission de flamme
Phtalates 581
Dosage par chromatographie gazeuse 581
Interprétation des résultats 1334, 1389
Principaux phtalates dosables par CG 582
Phytoplancton 905, 912
Phytosanitaire, voir Pesticides et apparentés
Phytotoxicité, voir Toxicité
Piscines 615
Plomb 341, 1002
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 188
Interprétation des résultats 1334
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 342
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 343
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 344
Plutonium 345, 393
POIRIER, voir LEGRAND et POIRIER
Poisson (test de toxicité)
Poisson électrogène 954
Station d'alerte 955
Test de toxicité létale avec *Brachydanio rerio* 939, 957
Test de toxicité létale avec *Salmo gardineri* 944, 956
Poisson marin 920
Poissons 950
Indice poissons rivière 871, 901
Test poisson (*Brachydanio rerio*) 901, 920, 957
Poissons d'eau douce 939
Polluants prioritaires 1382
Pollution accidentelle 957
Polychlorobiphényles 539, 582, 1342
Polychloroterphényles 1342
Polyhexaméthylène biguanide (PHMB)
Dosages spectrométriques du PHMB 676
Formes chimiques et utilisations 675

Méthode à l'éosine Y 677
Méthode au nickel-nioxime 678
Polyphaste, voir Phosphore
Polysulfures 592, 596
Potassium 345
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 188
Dosage par spectrométrie d'émission de flamme 170
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159
Limite de détection et interférences pour le dosage par électrode spécifique 193
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 180
Méthode par chromatographie ionique 346
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 345
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 346
Méthode par spectrométrie d'émission de flamme 345
Potassium 1461-1462
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Potentiel d'oxydo-réduction 96
Potentiel ZETA 56
Potentiométrie 190
Pouvoir colmatant 57
Pouvoir oxydo-réducteur 977
Précision (contrôle de) 1478
Prélèvement 4, 603
Conservation 8
Eaux de mer 1080
Eaux naturelles 3, 604
Eaux usées 965
Pour analyses microbiologiques 721, 723
Présentation des résultats 965
Produits phytosanitaires, voir Pesticides et apparentés
Progestérone 533
Propanal 488, 1208
Propazine 548
Propetamphos 545
Pseudomonas aeruginosa 789
Méthode par filtration sur membrane 797
Pyrène 514

Q

Qualité (contrôle de) 1477, 1483, 1486
Qualité des eaux (paramètres biologiques) 865, 867
Qualité des eaux (paramètres physicochimiques)
Descripteurs de l'aspect physique d'une eau 1187
Éléments minéraux des eaux 1190
Éléments mineurs 1192
Micropolluants organiques 1193
Paramètres descripteurs de la charge organique d'une eau 1188

R

Radioactivité 385, 1045, 1346
Analyse d'effluents 1048
Conservation et manipulation des échantillons d'eau 387
Détermination de la radioactivité d'un échantillon 387
Effluents radioactifs 1045
Exposition annuelle de la population 386
Expression des résultats 391
Gestion des effluents 1053
Interprétation des résultats 1346
Limite de détection et seuil de décision 391
Limites de rejets 1049
Mémento 1453
Mesure de la radioactivité bêta 390
Modèle statistique 391
Qualité radiologique de l'eau 386
Radioactivité artificielle 385
Radioactivité naturelle 385
Réglementation 1046-1047
Sources de référence pour l'étalonnage des appareils 390
Spectrométrie alpha 389
Spectrométrie gamma 388
Unités radiologiques 1459
Radioélements
Dose effective 1348
Impact des rejets en mer 1052
Limites de rejets dans l'environnement 1049-1051
Radioexposition naturelle et artificielle 1463
Radionucléides 1460
Radium 347, 395, 1350
Radon 385-386, 395, 1351
REACH (directive) 866
Réacteur à eau pressurisée (REP) 1051
REDOX, voir Potentiel d'oxydo-réduction
Réglementation
Eaux de baignades 1406, 1418
Eaux de rivière 1417
Eaux destinées à la conchyliculture 1409
Eaux destinées à la consommation humaine 1403, 1424
Eaux destinées à des utilisations agricoles 1409
Eaux naturelles 1416
Eaux souterraines 1419
Régulateurs lipidiques 584, 1354
Rejets génériques 1051
Rejets liquides radioactifs 1045, 1053
Relation dose-effets 1197
Renseignements à fournir pour une analyse d'eau 11, 605, 967
Représentation graphique des résultats
Bulletins d'analyse 603
Diagrammes à barres 602
Équilibres calco-carboniques 125, 603
Présentation des résultats 603
Rapport d'analyse 606
Renseignements à fournir pour une analyse de l'eau 605
Résidus et sels dissous totaux
Détermination du résidu fixe sulfaté 77
Interprétation des résultats 1354
Résidu minéralisé et perte au feu 76
Résidu sec 75
Résidus pharmaceutiques
Concentration dans les eaux 1353
Interprétation des résultats 1353
Principaux résidus retrouvés dans les eaux 583
Résidu total 50
Résistivité électrique, voir Conductivité 1242, 1354
Ressources documentaires en analyse hydrologique 1502
Résultats de l'analyse de l'eau 597
Réutilisation des eaux usées 1409
Revues techniques et scientifiques 1505
rH 100, 977
Roseaux 917
Rotifères 949

S

SAF, voir Sels d'acides forts 122
Salinité
Importance dans l'eau de mer 1079
Interprétation des résultats 1290
Mesure de l'eau de mer 1087, 1092
Salinité totale des eaux naturelles 75
Salmo gairdneri 920, 944
Salmonella 799, 1398
Recherche des *Salmonella* 799
Saveur, voir Goût 40
Sébuthylazine 548, 552
Sec-butylbenzène 508
Secchi (disque de) 51
Sédiments 1173
Anhydride carbonique 1176
Densité réelle 1174
Éléments traces métalliques 1176
Humidité 1174
Perte au feu 1174
*p*H 1175
Pourcentage d'insolubles 1177
Selenium
Apports par l'alimentation 1357
Dosage par spectrométrie atomique avec plasma (ICP ou ICP/MS) 189
Interprétation des résultats 1357
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 347
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec génération d'hydrure 348
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 349
Sels d'acides forts 122
Sensibilité 1487
Seq-eau 1417
Seuil analytique
Seuil de décision 392
Seuil de détection 1486
Seuil de quantification 1486
Sievert 1346, 1459
Silicate 350
Interprétation des résultats 1358
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 356
Méthode gravimétrique 351
Méthode par flux continu 353
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 355
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au molybdate d'ammonium 351, 1118
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 189, 356
Silice totale, voir Silicate
Silicium, voir Silicate
Simazine
Dosage par chromatographie gazeuze 548
Dosage par chromatographie liquide 551
Interprétation des résultats 1328, 1385
Snedecor (variable de) 1476
Sodium 188, 356
Dosage par spectrométrie d'émission de flamme 357
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159, 359
Interprétation des résultats 1359
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 180
Méthode par chromatographie ionique 359
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 358
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 359
Méthode par spectrométrie d'émission de flamme 170, 357
Sodium et hypertension 1360
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Solutions tampons 87, 1447
Soufre colloïdal libre 587
Soufre et composés soufrés réducteurs 589
Appareil de P. Urbain pour prélèvement d'eau 589
Hydrogène sulfuré libre 591
Mercaptans 594
Polysulfures 591, 596
Soufre réducteur en eau de mer 1037
Soufre total 590
Sulfites 591, 594, 596
Sulfures 591, 594, 1121
Thiosulfates 591, 595
Sous-produits de désinfection 614
Chlore 487, 492, 614
Dioxyde de chlore 614
Monochloramine 614
Ozone 487, 614
Spectrométrie alpha 389, 390
Spectrométrie d'absorption atomique 172
Absorption atomique à vapeurs froides 175
Absorption atomique avec flamme (SAAF) 173
Corrections des interférences 179
Générateur d'hydrures 173
Interactions 177
Limites de détection 180
Méthode des ajouts dosés 176
Principe 172
Solutions d'étalonnage 175
Spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique (SAAE) 173
Spectrométrie d'absorption moléculaire 143
Spectrométrie d'émission de flamme 166
Interactions 169
Principe 166
Réduction des interférences 172
Spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction 182
Interactions 186
Limites de détection usuelles 187
Principe 182
Spectrométrie gamma 388, 390
Staphylocoques pathogènes 810, 1398
Station d'épuration
Capacité d'oxygénation 1063
Vérification du fonctionnement 1063
Stations d'alerte
Algues *Scenenedesmus subspicatus* 956
Bactéries luminescentes *Vibrio fischeri* 956
Crustacés *Daphnia magna* 956
Moules zébrées *Dreissena polymorpha* 956
Truites – truitelles 956
Statistiques (notions élémentaires) 1467
Streptocoques fécaux, voir *Enterococcus*
Strontium 360
Activité du strontium (90) 396
Dosage simultané de cations par chromatographie ionique 159, 165
Indice de radioactivité β global en équivalent strontium (90) 396
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 163
Méthode par chromatographie ionique 434
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 361
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 362

Méthode par spectrométrie d'émission de flamme 360
Strontium (90) 159
Activité 396
Indice de radioactivité β global en équivalent strontium (90) 396
Strontium radioactif 1362
Strontium stable 1362
Student (variable de) 1475
Styrène 508, 1264, 1364
Substances humiques 434, 1282
Substances prioritaires 1392
Sucres totaux 438
Sulfate
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1364
Méthode gravimétrique 363
Méthode néphélométrique 363
Méthode par chromatographie ionique 368
Méthode par flux continu 365
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Sulfato-réductrices (vibrions sulfato-réducteurs) 817
Sulfite 368, 1039, 1042, 1365
Sulfito-réductrices (bactéries) 775
Actinomycètes 819
Méthode par enrichissement en milieu liquide 779
Méthode par filtration sur membrane 781
Méthode par incorporation en gélose 777
Recherche et dénombrement des spores de Clostridium sulfito-réducteurs 783
Sulforhodamine, voir Traceur
Sulforhodamine G 18, 19
Sulfures 368, 1039, 1041, 1121
Surber 873, 880, 885
Surfactifs, voir Agents de surface
Surveillance en continu de la toxicité 947
Syndicats professionnels 1498

T

TA/TAC, voir Alcalinité
Table de limite de confiance pour le dénombrement des microorganismes 732, 1487
TAC, voir Titre acidimétrique
Taille des particules 45
Tampon, voir Solution tampon
Taxon
Espèces utilisées pour le calcul de l'IPR 902
Taxons retenus pour la détermination de l'IBGN 874
Taxons retenus pour les grands cours d'eau 887
Taxons retenus pour les petits cours d'eau 883
Taxons retenus pour l'IBD 889, 891
Taxons retenus pour l'IBMR 899
TDE *o, p'* 539
TDE *p, p'* 539
Température
Eau chaude, amibes et légionelles 1369
Eaux cyprinicoles 1371
Eaux salmonicoles 1371
Interprétation des résultats 1368
Prélèvements d'eau pour le refroidissement 1369
Tensio-actifs, voir Agents de surface
Tératogénese embryonnaire, voir Toxicité
Terbutylazine 548
Tert-butylbenzène 508
Tests de toxicité, voir Toxicité
Testostérone 533
Tétrachloro-1,1,1,2 éthane 508
Tétrachloro-1,1,2,2 éthane 508, 517
Tétrachloro-1,2,3,4 benzène 539
Tétrachloroéthylène 508
Tétrachlorométhane 508
Tétrachlorure de carbone 517, 1267
Thallium
Interprétation des résultats 1372
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 368
Thiocyanate
Analyse dans les eaux résiduaires 1043
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Interprétation des résultats 1372
Méthode par chromatographie ionique 369
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Thiols, voir Mercaptans
Thiosulfate 369
Analyse dans les eaux résiduaires 1038
Dosage simultané d'anions par chromatographie ionique 159
Méthode par chromatographie ionique 369
Méthode potentiométrique 369
Solutions étalon pour chromatographie ionique 163
Thiosulfate de sodium
Dosage par le dichromate de sodium 1453
Dosage par le permanganate de potassium 1453
THM, voir Trihalométhanes
Thorium 370, 1195
Interprétation des résultats 1372
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire à l'arsénazo 372
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire au thorin 370
Thorium (232) 1461-1462
TH, voir Dureté
Titane
Interprétation des résultats 1373
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 372
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 373
Titre acidimétrique (TAC) 101, 122
Titre alcalimétrique, voir TA/TAC
Titre hydrotimétrique, voir Dureté
Toluène 495, 1264
Tours aéroréfrigérantes 615
TOX, voir AOX
Toxicité 915, 1390
Activité œstrogène 916
Algues *Scenenedesmus subspicatus* 917, 956
Appareillages de détermination de la toxicité 949
Biocapteurs 947
Contrôle en continu 947
Génotoxicité 916
Inhibition de croissance d'une population d'algue verte chlorococcale 932, 952
Inhibition de la luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* 925, 956, 1166
Inhibition de la mobilité du crustacé *Daphnia magna* 937, 952, 956, 1165
Interprétation des essais de toxicité 922
Moules zébrées *Dreissena polymorpha* 918, 956
Mutagénicité 916
Organismes tests 915
Phytotoxicité 917
Tératogénèse embryonnaire 919
Tests biologiques utilisables sur site 948

Toxicité aiguë 919
Toxicité aiguë vis-à-vis de *Salmo gairdneri* 944, 956
Toxicité chronique 919
Toxicité létale vis-à-vis d'un poisson d'eau douce (*Brachydanio rerio*) 939, 957
Toxiques de référence 921
Traceurs, voir Connexions hydraulyques
Trans-dichloro-1,2 éthylène 508
Transport et conservation au laboratoire 3, 727
Transuraniens (Pu, Am, Cm, Np) 394
Triadimefon 545
Triazines 536, 1328
Triazoles 536
Triazophos 545
Tribromométhane, voir Bromoforme
Tricétones 536
Trichloro-1,1,1 éthane 508, 517, 1267
Trichloro-1,1,2 éthane 508, 517, 1267
Trichloro-1,1,2 trifluoro éthane 517
Trichloro-1,2,3 benzène 508
Trichloro-1,2,3 propane 508
Trichloro-1,2,4 benzène 508
Trichloro-1,3,5 benzène 508
Trichloroacétaldéhyde (hydrate de chloral) 490
Trichloroacétonitrile 508
Trichloroéthylène 508, 1268
Trichlorofluoroéthane 517
Trifluoro-1,1,3 éthane 517
Trifluraline 549, 1329
Trihalométhanes 585
Trihloroéthylène 585
Triméthyl-1,2,4 benzène 508
Triméthyl-1,3,5 benzène 508
Tritium 374, 397, 1349
Truites – truitelles 950, 956
Turbidité 50

U

Unités de mesure 1431
Multiples et sous-multiples 1431
Unités anglo-saxonnes 1432
Unités de mesure spécifiques à la chimie des eaux 1431
Unités pondérales 598
UNSCEAR 1046
Uranine, voir Connexions hydrauliques
Uranium 374
Dosage dans l'eau de mer 1048
Interprétation des résultats 1378
Méthode par spectrofluorimétrie 374
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif 375
Uranium (238) 392, 1461-1462
Urées substituées 536

V

Valeurs guides
Effets toxiques à seuil 1199
Effets toxiques sans seuil 1200
Valeur toxicologique de référence 1197, 1200
Vanadium 376
Interprétation des résultats 1380
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 377
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite 377
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 376
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 189, 378
Vibrio fischeri 916, 951, 1166
Vibrion cholérique et *Vibrio* 812
Vinclozoline 549
Virus
Autres techniques : Integrated Cell Cultur-RTPCR (ICC-RTPCR) Séquençages... 825
Caractérisation des virus isolés 837
Détection dans l'eau 823, 1402
Détection par Biologie moléculaire 825
Domaine d'application 825
Identification 837
Identification des enterovirus isolés 837
Identification des souches vaccinales de poliovirus 837
Isolement et numération 835
Isolement sur cultures cellulaires 825
Méthode de concentration sur filtre en microfibres de verre 830
Méthode de concentration sur laine de verre 826
Méthode de concentration sur poudre de verre 832
Principe de la concentration 823
Principe de la détection 824
Reconcentration 834

W

Winkler (méthode de), voir « Oxygène dissous » 65, 1145

X

Xylène 494-495, 1264

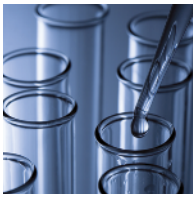
Y

Yersinia enterolitica 815, 1398
Youden (méthode de) 1485
Yttrium (90) 396-397

Z

Zinc 379, 1002
Interprétation des résultats 1381
Limites de détection en spectrométrie d'absorption atomique 181
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme 381
Méthode par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite 381
Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire 379
Méthode par spectrométrie d'émission avec plasma à couplage inductif 189, 382

Jean Rodier
Bernard Legube, Nicole Merlet *et coll.*



L'ANALYSE DE L'EAU

9e édition

La 9e édition de l'analyse de l'eau, entièrement refondue et mise à jour, constitue un ouvrage de synthèse présentant les **techniques modernes d'analyse chimiques, biologiques** et **microbiologiques des eaux**.

Prenant en compte les avancées technologiques les plus récentes dans le domaine de la chimie analytique, cette nouvelle édition présente un contenu fondamentalement renouvelé tout en conservant l'esprit et la forme des éditions précédentes. Enrichie de données sur les **nombreux polluants organiques** ciblés par les nouvelles réglementations, elle intègre les **polluants émergents** et s'appuie sur les nouveaux **indicateurs biologiques** permettant l'évaluation de l'état écologique des masses d'eau.

L'interprétation des résultats analytiques y occupe toujours une place de choix, contribuant à conférer à cet ouvrage une place de référence pour les professionnels de l'eau.

Pour cette 9e édition, les professeurs des universités Bernard Legube et Nicole Merlet de l'École Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers ont accepté de coordonner la révision complète de l'ouvrage, avec l'aide et les conseils permanents de Monsieur Régis BRUNET, directeur du laboratoire IANESCO-Chimie de Poitiers. Des membres du CRECEP de Paris, du CEA Saclay, de l'IFREMER de Charente-Maritime, du LERES de Rennes, de la DIREN Poitou-Charentes et d'autres experts individuels ont contribué également très significativement à la révision de cet ouvrage. C'est plus d'une quinzaine de spécialistes qui ont ainsi constitué l'équipe de rédaction ou qui ont participé à cette révision.

Sous la direction de

BERNARD LEGUBE
Professeur à l'Université de Poitiers

et

NICOLE MERLET
Professeur honoraire à l'université de Poitiers

Ont également collaboré à la révision de l'ouvrage :

RÉGIS BRUNET
JEAN-CLAUDE MIALOCQ
PIERRE LEROY
MARILYNE HOUSSIN
GWENAELLE LAVISON
CHRISTIAN BECHEMIN
MICHEL VINCENT
PIERRE REBOUILLON
LAURENT MOULIN
PATRICK CHOMODÉ
PASCALE DUJARDIN
SYLVIE GOSSELIN
RENÉ SEUX
FADI AL MARDINI

SUPPLÉMENTS en ligne

ISBN 978-2-10-054179-9

www.dunod.com

DUNOD